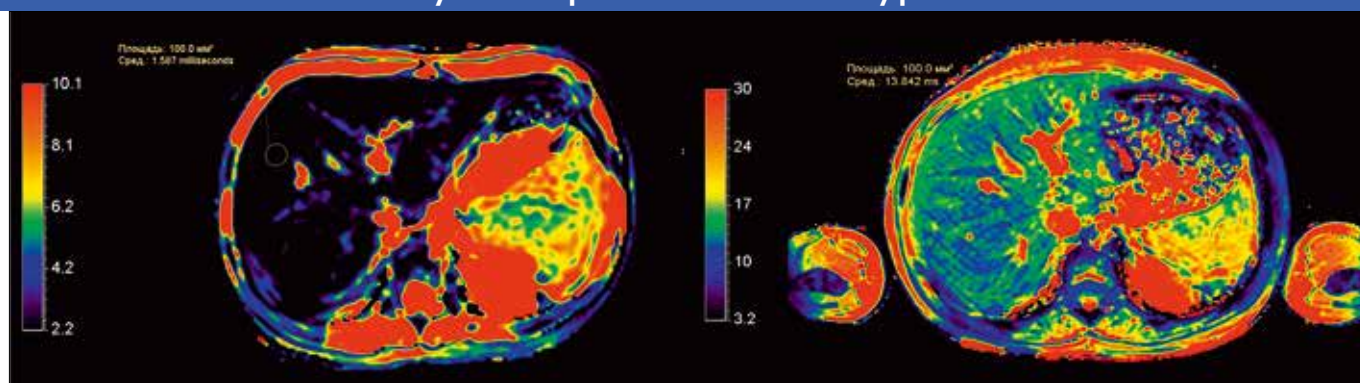


Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии

№ 3 | 19 | 2020

научно-практический журнал



Релаксометрические изображения с 3Т МР-томографа, с. 158

54

Современные возможности дистанционной диагностики болезни Виллебранда у детей, проживающих на территории Российской Федерации

The current status of remote diagnosis of von Willebrand disease in children in Russia

62

Гематологические проявления Х-сцепленных лимфопролиферативных синдромов 1-го и 2-го типов

Haematological complications of X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 and 2

84

Особенности течения рецидивов и рефрактерных форм Т-лимфобластной лимфомы у детей

Features of relapses and refractory forms of T-lymphoblastic lymphoma in children

95

Когда болезнь выходит за пределы кожи – изменения на коже могут быть признаком системного заболевания

When the disease goes beyond the skin, changes in the skin can be a sign of systemic disease



НАУКА –
ДЕТЯМ



Беззаботная жизнь под надежной защитой

ГЕМЛИБРА показана:

- при гемофилии А с ингибитором к фактору VIII и тяжелой гемофилии А без ингибитора
- в качестве рутинной профилактики для предотвращения или снижения частоты кровотечений
- для всех возрастных групп

ПОДКОЖНАЯ ИНЪЕКЦИЯ В РЕЖИМЕ:

- 1,5 мг/кг 1 раз в неделю • 3 мг/кг 1 раз в две недели • 6 мг/кг 1 раз в четыре недели

УВЕРЕННОСТЬ КАЖДЫЙ ДЕНЬ

Краткая инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата ГЕМЛИБРА®. Торговое наименование: Гемлибра®. Международное непатентованное наименование: Эмицизумаб. Лекарственная форма: Раствор для подкожного введения. Показания к применению: В качестве рутинной профилактики для предотвращения или снижения частоты кровотечений у пациентов с: гемофилией А (наследственный дефицит фактора VIII) с ингибиторами фактора VIII; тяжелой формой гемофилии А (наследственный дефицит фактора VIII, FVIII <1%) без ингибиторов фактора VIII. Противопоказания: Гиперчувствительность к эмицизумабу или к любому вспомогательному веществу в анамнезе. Беременность и период грудного вскармливания (эффективность и безопасность применения не изучались). С осторожностью: Нарушение функции почек и печени тяжелой степени. Способ применения и дозы: Терапию следует начинать под наблюдением врача, имеющего опыт в лечении гемофилии и/или нарушений свертываемости крови. Лечение препаратами с шунтирующим механизмом действия (bypassing agents) следует прекратить за день до начала терапии препаратом Гемлибра®. Профилактику фактором VIII можно продолжать в течение первых 7 дней терапии препаратом Гемлибра®. Рекомендуемый режим дозирования: Рекомендуемая доза составляет 3 мг/кг в виде подкожной инъекции один раз в неделю в течение первых 4-х недель, затем препарат вводят в поддерживающей дозе: 1,5 мг/кг один раз в неделю, или 3 мг/кг один раз в две недели, или 6 мг/кг один раз в четыре недели. Поддерживающую дозу следует выбирать на основании предпочтений врача и пациента/лица, осуществляющего уход за пациентом, для обеспечения приверженности выбранному режиму терапии. Побочное действие: очень частые (≥10%): головная боль, артралгия, реакции в месте введения; частые (≥1% и <10%): диарея, миалгия, пирексия; нечастые (≥0,1% и <1%): тромбоз кавернозного синуса, тромботическая микроангиопатия, тромбоз поверхностных вен, некроз кожи. Наиболее серьезными нежелательными реакциями, которые наблюдались в клинических исследованиях препарата Гемлибра®, были тромботическая микроангиопатия (ТМА) и тромботические явления, в том числе тромбоз кавернозного синуса и тромбоз поверхностных вен с одновременным некрозом кожи. Реакции в месте введения: В клинических исследованиях очень часто (21%) наблюдались реакции в месте введения, которые были несерьезными, легкой и средней степени тяжести, и в 95% случаев разрешились без лечения. Часто сообщаемыми симптомами были зуд в месте введения (11%), боль в месте введения (4%) и зуд в месте введения (3%). Особые указания: Тромботическая микроангиопатия, связанная с применением препарата Гемлибра® и активированного концентрата протромбинового комплекса (аКПК). В клиническом исследовании сообщалось о явлениях ТМА у пациентов, получавших профилактику препаратом Гемлибра®, при введении средней кумулятивной дозы аКПК >100 Ед/кг/24 ч в течение ≥24 ч. За пациентами, одновременно получающими профилактику препаратом Гемлибра® и аКПК, следует наблюдать на предмет развития ТМА. Лечащий врач должен немедленно отменить аКПК и прервать терапию препаратом Гемлибра®, при возникновении клинических симптомов. После полного разрешения ТМА, соответствующую ТМА, и провести лечение в соответствии с клиническими показаниями. После полного разрешения ТМА лечащий врач и пациент/лицо, осуществляющее уход за пациентом, должны оценить соотношение пользы и риска возобновления профилактики препаратом Гемлибра® на индивидуальной основе. В случае если пациенту, получающему профилактику препаратом Гемлибра®, показан препарат шунтирующего действия, см. ниже рекомендации по дозированию препаратов шунтирующего действия (подраздел «Рекомендации по применению препаратов

шунтирующего действия у пациентов, получающих профилактику препаратом Гемлибра®»). Тромбозомия, связанная с применением препарата Гемлибра® и активированного концентрата протромбинового комплекса (аКПК). В клиническом исследовании сообщалось о случаях развития тромботических явлений у пациентов, получавших профилактику препаратом Гемлибра®, при введении средней кумулятивной дозы аКПК >100 Ед/кг/24 ч в течение ≥24 ч. Ни в одном из случаев не потребовалось проведения антикоагулянтной терапии, что не характерно для обычной тактики лечения тромботических явлений. Признаки улучшения состояния пациентов или разрешения явлений наблюдались после отмены аКПК. За пациентами, одновременно получающими профилактику препаратом Гемлибра® и аКПК, следует наблюдать на предмет развития тромбозомии. Лечащий врач должен немедленно отменить аКПК и прервать терапию препаратом Гемлибра®, при возникновении клинических симптомов, получении данных визуализирующих исследований и/или лабораторных показателей, соответствующих тромботическим явлениям, и провести лечение в соответствии с клиническими показаниями. После полного разрешения тромботического явления лечащий врач и пациент/лицо, осуществляющее уход за пациентом, должны оценить соотношение пользы и риска возобновления профилактики препаратом Гемлибра® на индивидуальной основе. В случае если пациенту, получающему профилактику препаратом Гемлибра®, показан препарат шунтирующего действия, см. приведенные ниже рекомендации по дозированию препаратов шунтирующего действия. Рекомендации по применению препаратов шунтирующего действия у пациентов, получающих профилактику препаратом Гемлибра®. Лечение препаратами шунтирующего действия следует отменить за день до начала терапии препаратом Гемлибра®. Препарат Гемлибра® повышает способность крови к свертыванию. Следовательно, необходимая доза препарата шунтирующего действия может быть ниже таковой, используемой при отсутствии профилактики препаратом Гемлибра®. Длительность лечения препаратами шунтирующего действия и их дозирование будут зависеть от локализации и объема кровотечения, а также от клинического состояния пациента. Применение аКПК следует избегать, за исключением случаев, когда другие варианты лечения/альтернативные средства недоступны. Если пациенту, получающему профилактику препаратом Гемлибра®, показано применение аКПК, начальная доза аКПК не должна превышать 50 Ед/кг. Если кровотечение не удается остановить с помощью начальной дозы аКПК до 50 Ед/кг, следует ввести дополнительные дозы аКПК под руководством или наблюдением медицинского работника, а общая доза аКПК не должна превышать 100 Ед/кг за первые 24 часа лечения. При рассмотрении вопроса о продолжении терапии аКПК после введения максимальной дозы 100 Ед/кг в течение первых 24 часов лечащие врачи должны тщательно сопоставить риск развития ТМА и тромбозомии и риск кровотечения. В клинических исследованиях не наблюдалось случаев ТМА или тромботических явлений при использовании только активированного рекомбинантного человеческого фактора VII (rFVIIa) у пациентов, получавших профилактику препаратом Гемлибра®. Следует соблюдать данные указания по дозированию препарата шунтирующего действия как минимум в течение 6 месяцев после прекращения профилактики препаратом Гемлибра®. Претензии потребителей направлять в компанию АО «Рош-Москва» по адресу: 107031, Россия, г. Москва, Трунная площадь, д. 2, тел. (495) 229 29 99, факс (495) 229 79 99 или через форму обратной связи на сайте: www.roche.ru. Регистрационное удостоверение: ЛП-005110. Подробная информация содержится в инструкции по медицинскому применению препарата Гемлибра® от 02.06.2020.

1. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата ГЕМЛИБРА®. РУ ЛП-005110-11. 02.06.2020.

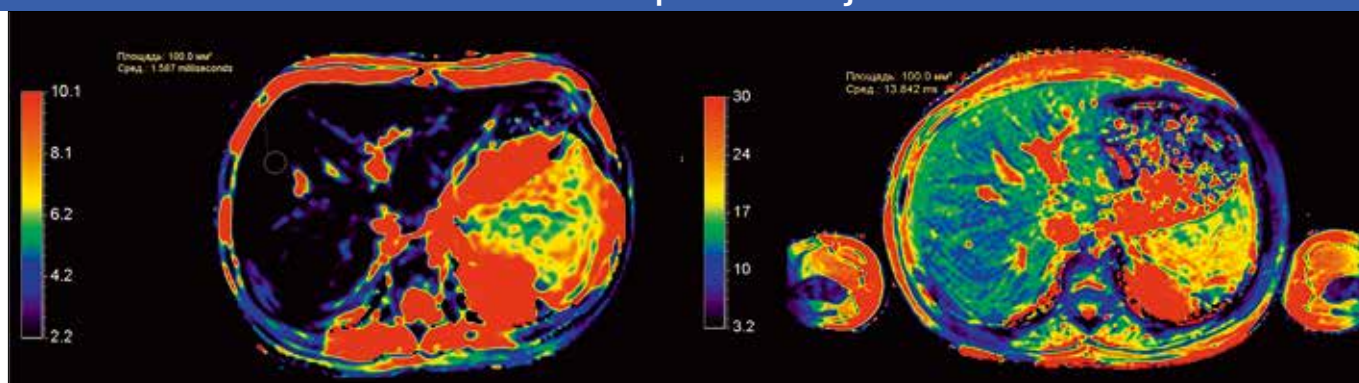
2. Oldenburg J. et al. Emicizumab Prophylaxis and Health-Related Outcomes in Persons with Haemophilia A (PwHA) with Inhibitors: HAVEN 1 Study // Haemophilia, 2019 Jan;25(1):33-44.

3. G. Young et al. A multicenter, open-label, phase 3 study of emicizumab prophylaxis in children with hemophilia A with inhibitors // Blood, 2019.

Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology

№ 3 | 19 | 2020

scientific and practical journal



Relaxometric maps of 3T MRI scanners are presented, p. 158

54

The current status of remote diagnosis of von Willebrand disease in children in Russia

62

Haematological complications of X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 and 2

84

Features of relapses and refractory forms of T-lymphoblastic lymphoma in children

95

When the disease goes beyond the skin, changes in the skin can be a sign of systemic disease



НАУКА —
ДЕТЯМ



A peer-reviewed open-access journal, is published 4 times a year by the Foundation «Science – for Children’ Benefit» and «Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology». Printed in the Russian Federation. The electronic version of the journal is available online at www.hemoncim.com

Information for Subscribers

Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology is published 4 times a year. You may subscribe to *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* using a subscription catalogue “Newspapers. Magazines” of Rospechat Agency, subscription index – 12914.

Manuscript Submissions

Please submit your manuscript at http://www.hemoncim.com/authors_en.html. More information on manuscript submission is available at http://www.hemoncim.com/authors_en.html in corresponding sections.

Advertising

To place an advertisement or receive additional information, please contact us via e-mail: info@vind-fnkc.ru

Commercial Reprints

For commercial reprints, please contact us via e-mail: info@vind-fnkc.ru

Disclaimer

The Publisher and the Editors cannot be held responsible for errors or any consequences arising from the use of information contained in this journal. The ideas and opinions expressed do not necessarily reflect those of the Publisher and the Editors, neither does the publication of advertisements constitute any endorsement by the Publisher and Editors of the products advertised.

Indexing

The journal is indexed by *Scopus*, *Ulrich’s Periodicals Directory* and *Russian Science Citation Index*.

Copyright

Copyright © 2020 by «Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology» («D. Rogachev NMRCPOI»), Oncology and Immunology. All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored, translated, or transmitted in any form or by any means without the prior permission in writing from the copyright holder.

Address for correspondence

Editorial office of *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*: Samory Mashela St., 1, 117198, Moscow, Russia

For further information on rights and permissions, please contact us via e-mail: info@vind-fnkc.ru

Рецензируемый журнал с открытым доступом, издается 4 раза в год Фондом «Наука – детям» и Федеральным государственным бюджетным учреждением «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Журнал печатается в Российской Федерации. Электронная версия журнала доступна на сайте: www.hemoncim.com

Информация для подписчиков

Журнал «Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии» выходит 4 раза в год. Вы можете подписаться на журнал «Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии» по каталогу «Газеты. Журналы» агентства «Роспечать», подписной индекс – 12914.

Подача рукописей

Прислать рукопись можно по ссылке: http://www.hemoncim.com/authors_en.html Ознакомиться с правилами подачи рукописей можно в соответствующих разделах на сайте: http://www.hemoncim.com/authors_en.html

Размещение рекламных материалов

По вопросам размещения рекламы обращайтесь в редакцию. E-mail: info@vind-fnkc.ru

Репринт

По вопросам репринта обращайтесь в редакцию. E-mail: info@vind-fnkc.ru

Дисклеймер

Издатель и редакция не несут ответственности за ошибки или последствия использования информации, публикуемой в данном журнале. Идеи и мнения автора могут не совпадать с точкой зрения издателя и редакции. Издатель и редакция не несут ответственности за содержание и качество размещенных в журнале рекламных материалов.

Индексирование

Журнал индексируется в *Scopus*, *Ulrich’s Periodicals Directory* и *Российском индексе научного цитирования*.

Авторское право

© 2020 Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России). Все авторские права сохранены. Запрещается полная или частичная репродукция, хранение, перевод или передача опубликованных материалов в любом виде или любыми средствами без письменного разрешения владельца авторских прав.

Адрес для корреспонденции

Редакция журнала «Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии»: Россия, 117198, Москва, ул. Саморы Машела, 1

Для получения более подробной информации, касающейся авторских прав и разрешений, просим связаться с нами по электронной почте: info@vind-fnkc.ru

Founders

D. Rogachev NMRCPOI
Foundation «Science – for Children’ Benefit».

Publisher

LLC «Science and education».
Address: Russia, 121357, Moscow, Vereyskaya st., 17-311/1

The address of the editorial office

Tel.: +7 (495) 287-6579, extension number 1396
www.hemoncim.com
E-mail: journal@fnkc.ru
Advertising department: +7 (495) 287-6570, extension number 2102

The journal is registered in the Federal Service for Monitoring Compliance with Cultural Heritage Protection Law.
Registration number is ПИ № ФС77-69056
The journal was founded in 2002.

Printing office

LLC «PRINT-M».

The circulation is 3000 copies. The price is free. 6+

Учредители

ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России,
Фонд «Наука – детям».

Издатель

ООО «Наука и образование».
Адрес: 121357, Москва, ул. Верейская, д. 17, пом. 311, к. 1

Редакция журнала

Тел.: +7 (495) 287-6579, доб. 1396
www.hemoncim.com E-mail: journal@fnkc.ru
По вопросам рекламы: +7 (495) 287-6570, доб. 2102

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций и охраны культурного наследия.
Регистрационный номер ПИ № ФС77-69056
Журнал основан в 2002 году.

Типография

ООО «ПРИНТ-М».

Тираж 3000 экз. Цена свободная. 6+

ВОПРОСЫ ГЕМАТОЛОГИИ/ОНКОЛОГИИ И ИММУНОПАТОЛОГИИ В ПЕДИАТРИИ

Научно-практический журнал

№ 3 | том 19 | 2020



Главный редактор

Новичкова Галина Анатольевна

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Заместители главного редактора

Масчан Алексей Александрович

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, Москва, Россия

Румянцев Александр Григорьевич

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Москва, Россия

Ответственный секретарь

Сметанина Наталия Сергеевна

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Члены редколлегии

Алейникова Ольга Витальевна

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент НАН,
Минск, Республика Беларусь

Балашов Дмитрий Николаевич

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Белогурова Маргарита Борисовна

доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург, Россия

Варфоломеева Светлана Рафаэлевна

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Володин Николай Николаевич

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Москва,
Россия

Демихов Валерий Григорьевич

доктор медицинских наук, профессор, Рязань, Россия

Кит Олег Иванович

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН,
Ростов-на-Дону, Россия

Кулагин Александр Дмитриевич

доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург, Россия

Масчан Михаил Александрович

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Минков Милен

доктор медицинских наук, профессор, Вена, Австрия

Пантелеев Михаил Александрович

доктор физико-математических наук, Москва, Россия

Паровичникова Елена Николаевна

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Птушкин Вадим Вадимович

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Решетов Игорь Владимирович

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Москва,
Россия

Румянцев Сергей Александрович

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН,
Москва, Россия

Трахтман Павел Евгеньевич

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Цаур Григорий Анатольевич

доктор медицинских наук, Екатеринбург, Россия

Щербина Анна Юрьевна

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Редакционный совет

Алексеева Е.И.

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН,
Москва, Россия

Атауллаханов Ф.И.

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН,
Москва, Россия

Афанасьев Б.В.

доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург, Россия

Вельте К.

профессор, Тюбинген, Германия

Виллих Н.

профессор, Мюнстер, Германия

Грачев Н.С.

доктор медицинских наук, Москва, Россия

Карачунский А.И.

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Крыжановский О.И.

кандидат медицинских наук, Сан-Франциско, США

Липтон Дж.

профессор, Нью-Йорк, США

Мякова Н.В.

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Накагавара А.

профессор, Чиба, Япония

Окс Г.

профессор, Сизтл, США

Родригес-Галиндо К.

профессор, Мемфис, США

Самочатова Е.В.

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Скокова Ю.В.

доктор медицинских наук, Тюбинген, Германия

Тер-Ованесов М.Д.

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Фечина Л.Г.

кандидат медицинских наук, Екатеринбург, Россия

Чернов В.М.

доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Хамин И.Г.

кандидат медицинских наук, Москва, Россия

Хармс Д.

профессор, Киль, Германия

Хенце Г.

профессор, Берлин, Германия

Журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых журналов и изданий ВАК,
в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций
на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук



Editor-in-Chief

Galina A. Novichkova
MD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Deputy Editors-in-Chief

Alexey A. Maschan
MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the RAS, Moscow, Russian Federation

Alexander G. Romyantsev
MD, DSc, Professor, Academician of the RAS, Moscow, Russian Federation

Executive Secretary

Nataliya S. Smetanina
MD, PhD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Members of the Editorial Board

Olga V. Aleynikova
MD, Corresponding Member of the NAS, Minsk, Republic of Belarus

Dmitry N. Balashov
MD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Margarita B. Belogurova
MD, DSc, Professor, Saint Petersburg, Russian Federation

Svetlana R. Varfolomeeva
MD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Nikolay N. Volodin
MD, DSc, Professor, Academician of the RAS, Moscow, Russian Federation

Valeriy G. Demikhov
MD, DSc, Professor, Ryazan, Russian Federation

Oleg I. Kit
MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the RAS, Rostov-on-Don, Russian Federation

Alexander D. Kulagin
MD, DSc, Professor, Saint Petersburg, Russian Federation

Mikhail A. Maschan
MD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Mylen Minkov
MD, DSc, Professor, Vienna, Austria

Mikhail A. Panteleev
PhD, DSc, Moscow, Russian Federation

Elene N. Parovichnikova
MD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Vadim V. Ptushkin
MD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Igor V. Reshetov
MD, DSc, Professor, Academician of the RAS, Moscow, Russian Federation

Sergey A. Romyantsev
MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the RAS, Moscow, Russian Federation

Pavel E. Trakhtman
MD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Grigory A. Tzaur
MD, PhD, DSc, Ekaterinburg, Russian Federation

Anna Yu. Shcherbina
MD, PhD, DSc, Professor, Moscow, Russian Federation

Advisory Editors

Alekseeva E.I.
MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the RAS, Moscow, Russia

Ataullakhanov F.I.
MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the RAS, Moscow, Russia

Afanasyev B.V.
MD, DSc, Professor, Saint Petersburg, Russia

Welte K.
Professor, Tübingen, Germany

Willich N.
Professor, Münster, Germany

Grachev N.S.
MD, DSc, Moscow, Russia

Karachunskiy A.I.
MD, DSc, Professor, Moscow, Russia

Kryzhanovskiy O.I.
MD, San Francisco, USA

Lipton J.
Professor, New York, USA

Myakova N.V.
MD, DSc, Professor, Moscow, Russia

Nakagawara A.
Professor, Chiba, Japan

Ochs H.
Professor, Seattle, USA

Rodriguez-Galindo C.
Professor, Memphis, USA

Samochatova E.V.
MD, DSc, Professor, Moscow, Russia

Skokova Yu.V.
MD, DSc, Tübingen, Germany

Ter-Ovanesov M.D.
MD, DSc, Professor, Moscow, Russia

Fechina L.G.
MD, PhD, Yekaterinburg, Russia

Khamin I.G.
MD, Moscow, Russia

Harms D.
Professor, Kiel, Germany

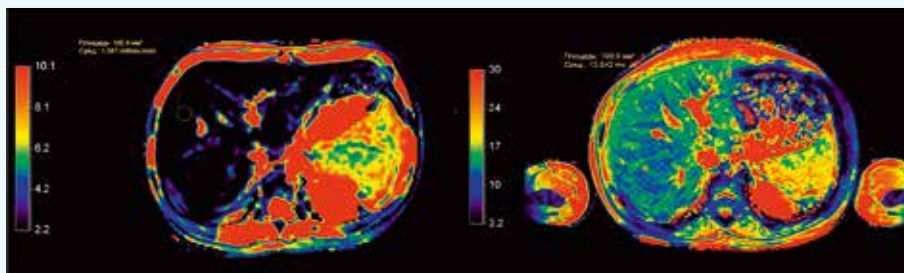
Henze G.
Professor, Berlin, Germany

Chernov V.M.
MD, DSc, Professor, Moscow, Russia

Содержание

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, 2020, 19 (3)

Оформление обложки:



**Релаксометрические
изображения
с 3T МР-томографа**

Из статьи Назаровой Э.Э.
и соавт. (стр. 158)

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Description of health related quality of life of children and adolescents with hemophilia from India** 12

A. Dsouza, D. Nayak, A. Kurien, M.S. Pai, B.S. Nayak

- Применение тканевой оксиметрии при гемотрансфузии у детей массой тела при рождении менее 1500 г** 18

Д.Р. Шарафутдинова, Е.Н. Балашова, О.В. Ионов, А.Р. Киртбая, Ю.М. Голубцова, А.Ю. Рындин, В.В. Зубков, Д.Н. Дегтярев

- Treatment lines of childhood chronic ITP: A retrospective single-center analysis** 26

Ayat Yasser, Eman Omar Khasahba, Mohamed Abd El Rahman Shokeir, Suzy Abd El Mabood

- Определение гемоглобина ретикулоцитов – современный подход к диагностике железодефицитных состояний у детей** 32

К.И. Пшеничная, Т.М. Ивашикина, М.В. Зайдина

- Оценка информативности расчетных эритроцитарных индексов при первичной диагностике талассемий** 36

У.А. Маркелова, С.А. Плясунова

- Организационные аспекты терапии острой массивной кровопотери при хирургической коррекции онкологических заболеваний у детей** 42

Н.П. Леонов, В.В. Щукин, Г.А. Новичкова, Е.А. Спиридонова

- Спектр генетических вариантов α - и β -глобиновых кластеров у пациентов с гемоглобинопатиями, проживающих на территории Республики Дагестан** 50

С.Г. Манн, Е.В. Райкина, И.М. Юнусова

- Современные возможности дистанционной диагностики болезни Виллебранда у детей, проживающих на территории Российской Федерации** 54

А.В. Полетаев, Е.А. Серегина, Д.В. Федорова, П.А. Жарков

- Гематологические проявления X-сцепленных лимфопролиферативных синдромов 1-го и 2-го типов** 62

А.А. Роппельт, А.Л. Лаберко, В.И. Бурлаков, Н.Ю. Кан, Ю.А. Родина, Д.В. Юхачева, Е.А. Викторова, О.С. Селезнева, Д.Е. Першин, В.А. Ведмедская, Е.В. Райкина, Т.В. Варламова, А.М. Киева, С.Г. Манн, А.В. Поляков, И.Г. Сермягина, У.Н. Петрова, И.И. Калинина, Л.Н. Шелихова, Д.Н. Балашов, И.В. Кондратенко, А.А. Масчан, А.Ю. Щербина

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

- Трансфузионно-зависимый фенотип талассемии при сочетании аномалий глобиновых генов: трипликация α -глобиновых генов с β -талассемией** 73
Е.А. Черняк, М.Е. Лохматова, С.Г. Манн, Н.А. Карамян
- Случаи транзиторного аномального миелопоэза** 77
М.А. Климентова, И.И. Чиквина, Л.А. Хачатрян
- Особенности течения рецидивов и рефрактерных форм Т-лимфобластной лимфомы у детей** 84
З.А. Абашидзе, Ю.Ю. Дьяконова, Н.В. Мякова
- Сложности диагностики дефицита пируваткиназы** 90
Ф.Р. Хаджиева, С.Н. Мушанова, Т.Н. Кекеева, И.Н. Лаврентьева, Е.В. Райкина
- Когда болезнь выходит за пределы кожи – изменения на коже могут быть признаком системного заболевания** 95
Л.А. Хачатрян, Д.М. Николаева, А.П. Щербаков
- Случай развития вторичного миелоидного лейкоза у пациента с нейробластомой** 105
Д.Т. Уталиева, И.И. Калинина, Д.Ю. Качанов, Д.А. Евсеев, А.П. Щербаков, М.Э. Дубровина, Р.А. Моисеенко, Ю.Н. Ликарь, Т.В. Шаманская

ШКОЛА ИММУНОЛОГА – МНЕНИЕ ЭКСПЕРТА

- Редкий случай комбинированного иммунодефицита с делецией длинного плеча хромосомы 11(q) – синдром Якобсена** 114
Н.Б. Кузьменко, О.А. Швец, А.А. Мухина

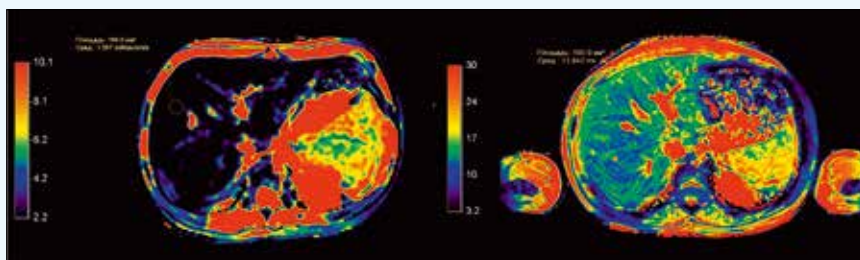
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

- Дефицит пируваткиназы и несфероцитарная гемолитическая анемия** 121
Е.А. Бовт, Л.Д. Колева, Е.А. Черняк, Ф.И. Атауллаханов, Н.С. Сметанина, Е.И. Синауридзе
- Современные подходы к лечению гемофилии** 131
Д.Б. Флоринский, П.А. Жарков
- Посттромботический синдром у детей: современное состояние вопроса** 139
М.Ю. Жуков, Н.Н. Митраков, П.А. Жарков
- Современные направления в исследованиях свертывания крови** 144
А.М. Шибеко, А.Н. Баландина, Н.А. Подоплелова, М.А. Пантелеев
- Психологическая реабилитация в детской онкологии** 151
И.В. Грибкова, В.Н. Степанова, А.А. Завьялов
- Неинвазивная диагностика перегрузки железом методом магнитно-резонансной томографии** 158
Э.Э. Назарова, Д.А. Куприянов, Г.А. Новичкова, Г.В. Терещенко
- Современные и разрабатываемые биотехнологические препараты для лечения патологии системы комплемента при пароксизмальной ночной гемоглобинурии** 164
Д.А. Кудлай, Б.А. Бакиров, В.Н. Павлов
- GD2-направленная иммунотерапия нейробластомы группы высокого риска с использованием химерных антител ch14.18** 173
Т.В. Шаманская, Н.А. Андреева, Д.Т. Уталиева, Д.Ю. Качанов

РЕДАКЦИОННАЯ СТАТЬЯ

- Возможности, проблемы и перспективы применения телемедицинских технологий в области детской онкогематологии** 189
А.А. Иванова, Е.В. Завалева, А.В. Павлюк, Г.А. Новичкова

Cover design:



**Relaxometric maps
of 3T MRI scanners
are presented**

From the article
by Nazarova E.E. et al.
(p. 158)

ORIGINAL ARTICLE

- Description of health related quality of life of children and adolescents with hemophilia from India** 12

A. Dsouza, D. Nayak, A. Kurien, M.S. Pai, B.S. Nayak

- Application of near-infrared spectroscopy in extremely and very low birth weight infants for red blood cells transfusion** 18

D.R. Sharafutdinova, E.N. Balashova, O.V. Ionov, A.R. Kirtbaya, J.M. Golubtsova, A.Yu. Ryndin, V.V. Zubkov, D.N. Degtyarev

- Treatment lines of childhood chronic ITP: A retrospective single-center analysis** 26

Ayat Yasser, Eman Omar Khasahba, Mohamed Abd El Rahman Shokeir, Suzy Abd El Mabood

- The measurement of reticulocyte hemoglobin content: a modern approach to the diagnosis of iron deficiency in children** 32

K.I. Pshenichnaya, T.M. Ivashikina, M.V. Zaydina

- Assessment of informative value of calculated red blood cell indices in the primary diagnosis of thalassemia** 36

U.A. Markelova, S.A. Plyasunova

- Organizational aspects of acute massive blood loss therapy in pediatric surgical oncology** 42

N.P. Leonov, V.V. Shchukin, G.A. Novichkova, E.A. Spiridonova

- The spectrum of genetic variants of the α - and β -globin clusters in patients with hemoglobinopathies living in the Republic of Dagestan** 50

S.G. Mann, E.V. Raikina, I.M. Yunusova

- The current status of remote diagnosis of von Willebrand disease in children in Russia** 54

A.V. Poletaev, E.A. Seregina, D.V. Fedorova, P.A. Zharkov

- Haematological complications of X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 and 2** 62

A.A. Roppelt, A.L. Laberko, V.I. Burlakov, N.Yu. Kan, Yu.A. Rodina, D.V. Yukhacheva, E.A. Viktorova, O.S. Selezneva, D.E. Pershin, V.A. Vedmedskaya, E.V. Raykina, T.V. Varlamova, A.M. Kieva, S.G. Mann, A.V. Polyakov, I.G. Sermyagina, U.N. Petrova, I.I. Kalinina, L.N. Shelikhova, D.N. Balashov, I.V. Kondratenko, A.A. Maschan, A.Yu. Shcherbina

CLINICAL OBSERVATION

- Transfusion-dependent phenotype of thalassemia in case of combined carriage of globin genes abnormalities: α -globin gene triplikation and β -thalassemia** 73

E.A. Cherniak, M.E. Lokhmatova, S.G. Mann, N.A. Karamjan

Cases of transient abnormal myelopoiesis	77
M.A. Klimentova, I.I. Chikvina, L.A. Khachatryan	
Features of relapses and refractory forms of T-lymphoblastic lymphoma in children	84
Z.A. Abashidze, U.U. Dyakonova, N.V. Myakova	
Diagnostic challenges in pyruvate kinase deficiency	90
F.R. Khadzhieva, S.N. Mushanova, T.N. Kekeeva, I.N. Lavrentyeva, E.V. Raykina	
When the disease goes beyond the skin, changes in the skin can be a sign of systemic disease	95
L.A. Khachatryan, D.M. Nikolaeva, A.P. Shcherbakov	
Therapy-related acute myeloid leukemia in a patient with neuroblastoma: case report	105
D.T. Utalieva, I.I. Kalinina, D.Yu. Kachanov, D.A. Evseev, A.P. Shcherbakov, M.Ye. Dubrowina, R.A. Moiseenko, Yu.N. Likar, T.V. Shamanskaya	

SCHOOL OF IMMUNOLOGY – EXPERT OPINION

A rare case of combined immunodeficiency due to a deletion of 11(q) – Jacobsen syndrome	114
N.B. Kuzmenko, O.A. Shvets, A.A. Mukhina	

LITERATURE REVIEW

Pyruvate kinase deficiency and nonspherocytic hemolytic anemia	121
E.A. Bovt, L.D. Koleva, E.A. Chernyak, F.I. Ataullakhanov, N.S. Smetanina, E.I. Sinauridze	
Modern approaches in hemophilia therapy	131
D.B. Florinskiy, P.A. Zharkov	
Post-thrombotic syndrome in children: current state of affairs	139
M.Yu. Zhukov, N.N. Mitrov, P.A. Zharkov	
Current trends in blood coagulation studies	144
A.M. Shibeko, A.N. Balandina, N.A. Podoplelova, M.A. Panteleev	
Psychological rehabilitation in pediatric oncology	151
I.V. Gribkova, V.N. Stepanova, A.A. Zavyalov	
Noninvasive assessment of iron overload by magnetic resonance imaging	158
E.E. Nazarova, D.A. Kupriyanov, G.A. Novichkova, G.V. Tereshchenko	
Biotechnological products for the treatment of complement system disorders including paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: currently available and in development	164
D.A. Kudlay, B.A. Bakirov, V.N. Pavlov	
Anti-GD2 immunotherapy with the chimeric antibody ch14.18 for high-risk neuroblastoma	173
T.V. Shamanskaya, N.A. Andreeva, D.T. Utalieva, D.Yu. Kachanov	

EDITORIAL

Possibilities, difficulties and prospects for using telemedicine technologies in the field of pediatric oncohematology	189
A.A. Ivanova, E.V. Zavaleva, A.V. Pavluk, G.A. Novichkova	

Сепротин®

Протеин С человеческий для терапии молниеносной пурпуры и кумарин-индуцированного некроза кожи при врожденной недостаточности протеина С¹

- Быстрое повышение уровня протеина С¹
- Способствует разрешению клинических проявлений тромбообразования^{2,3,4}
- Контроль и профилактика тромботических осложнений^{1,3,4}



Краткая инструкция по применению лекарственного препарата СЕПРОТИН®

Регистрационный номер: ЛС-002446

Международное непатентованное или группировочное наименование: протеин С человеческого

Лекарственная форма: лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения

Фармакотерапевтическая группа: антигеморрагический препарат.

Код АТХ: B01AD12

Фармакологические свойства. Фармакодинамика. Протеин С – витамин К-зависимый антикоагулянтный гликопротеин, который синтезируется в печени. После активации комплексом тромбин/тромбомодулин на поверхности эндотелия сосудов протеин С превращается в активированный протеин С (activated protein C-APC). APC – сериновая протеаза, обладающая мощным антикоагулянтным действием, особенно в присутствии протеина S. Действие APC связано с инактивацией активированных V и VIII факторов свертывания, что приводит к уменьшению образования тромбина. APC обладает также профибринолитическим действием.

Показания к применению. Препарат Сепротин показан при молниеносной пурпуре и кумарин-индуцированном некрозе кожи у пациентов с тяжелой врожденной недостаточностью протеина С. Кроме того, назначение препарата Сепротина с целью кратковременной профилактики показано пациентам с тяжелой врожденной недостаточностью протеина С в следующих случаях: при неизбежности хирургического или инвазивного вмешательства; в начале курса лечения производными кумарина; при недостаточной эффективности терапии только производными кумарина; при невозможности проведения курса лечения производными кумарина.

Противопоказания. Повышенная чувствительность к действующему веществу или к любому из вспомогательных веществ, а также к мышьяку белкам или к гепарину, за исключением случаев, когда необходимо лечение угрожающих жизни тромботических осложнений.

С осторожностью. Для пациентов с почечной и/или печеночной недостаточностью рекомендуется применять с осторожностью.

Применение при беременности и в период грудного вскармливания. Польза от применения препарата Сепротин в периоды беременности и лактации должна быть сопоставлена с риском для матери и младенца, а его назначение возможно только в случае явной необходимости.

Способ применения и дозы. Доза, частота введения, длительность терапии препаратом Сепротин зависят от степени выраженности недостаточности протеина С, возраста пациента, его клинического состояния и уровня протеина С в плазме крови. Рекомендуемая начальная доза составляет от 60 до 80 МЕ/кг и позволяет определить интенсивность терапевтического ответа и период полувыведения. Пациенты, проходящие лечение во время острой фазы их заболевания, могут демонстрировать гораздо более низкие уровни повышения активности протеина С. Серьезные вариации индивидуальных реакций подразумевают, что воздействия препарата Сепротин на параметры свертывания крови должны проходить регулярную проверку уровня протеина С. При переводе пациента на постоянную терапию пероральными антикоагулянтами отмену терапии протеином С следует проводить только при достижении стабильного антикоагулянтного состояния. Более того, начинать терапию пероральными антикоагулянтами рекомендуется не со стандартной нагрузочной дозы, а с низкой дозы с последующим постепенным повышением. Пациенты с почечной и/или печеночной недостаточностью должны подвергаться более тщательному мониторингу, поскольку опыт лечения таких пациентов отсутствует. Клинические данные об эффективности и безопасности применения Сепротина у пациентов с комбинацией тяжелой врожденной недостаточности протеина С и резистентностью к активированному протеину С ограничены. Дети. Дозы препарата Сепротин, применяемые для взрослых пациентов, могут назначаться детям и новорожденным согласно данным педиатрического клинического опыта, известного из отчетов и клинического исследования, в целом охватывающих 83 пациента.

Побочное действие. Как и в случае других препаратов для внутривенного введения, возможны аллергические реакции. Пациенты должны быть информированы о ранних признаках реакций гиперчувствительности, таких как: ангионевротический отек, жжение и болезненность в месте введения, озноб, гиперемия,

кожная сыпь; крапивница, в том числе генерализованная; головная боль, артериальная гипотензия, заторможенность, тошнота, беспокойство, тахикардия, ощущения стеснения в груди, ощущения покалывания, рвота и свистящее дыхание. Пациенты должны быть проинструктированы о необходимости немедленно обратиться к лечащему врачу при появлении этих симптомов. В ходе исследований был повышен С-реактивный белок. Сообщения о повышенной температуре и повышенном уровне С-реактивного белка относились к одному и тому же субъекту. Если препарат применяется у пациентов с тяжелым врожденным дефицитом протеина С, могут развиваться антитела, ингибирующие активность протеина С. **Перечень всех побочных эффектов представлен в инструкции по медицинскому применению.**

Передозировка. Какие-либо сообщения о симптомах передозировки препарата Сепротина отсутствуют.

Взаимодействие с другими лекарственными средствами и другие формы взаимодействий. На сегодняшний день взаимодействие препарата Сепротин с другими лекарственными средствами не отмечено.

У пациентов, начинающих лечение пероральными антикоагулянтами из группы антагонистов витамина К (например, варфарином), до наступления антикоагулянтного эффекта возможно переходящее состояние гиперкоагуляции. Именно по этой причине при переводе пациента на прием пероральных антикоагулянтов заместительную терапию протеином С следует продолжать до наступления стабильного антикоагулянтного эффекта.

Несовместимость. Поскольку исследования по оценке совместимости препарата Сепротин не проводились, препарат Сепротин не следует смешивать с другими препаратами.

Особые указания. Меры предосторожности при применении. Так как существует риск развития аллергических реакций, пациенты должны быть информированы о ранних симптомах аллергии, таких как крапивница (в том числе генерализованная), ощущение стеснения в груди, свистящее дыхание, артериальная гипотензия и анафилаксия. При появлении этих симптомов пациенты должны сообщить о них лечащему врачу. Рекомендуется немедленно прекратить применение препарата. В случае развития шока следует придерживаться действующих стандартов его лечения. Препарат Сепротин может содержать следовые количества гепарина. Поэтому у пациентов могут наблюдаться гепарин-индуцированные аллергические реакции, сопровождающиеся быстрым снижением количества тромбоцитов (гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ)). При ГИТ могут наблюдаться артериальный или венозный тромбоз, синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС), пурпура, пекетии и желудочно-кишечное кровотечение (мелена). При подозрении на ГИТ необходимо как можно быстрее определить уровень тромбоцитов и, если это необходимо, прервать лечение препаратом Сепротин. Выявление ГИТ осложняется тем, что аналогичные симптомы уже могут иметь место в острой фазе заболевания у пациентов с тяжелой наследственной недостаточностью протеина С. Пациентам с ГИТ в дальнейшем следует избегать приема препаратов, содержащих гепарин.

При применении препарата Сепротин в клинической практике было отмечено несколько случаев кровотечений. Это могло быть связано с сопутствующим применением антикоагулянтов (например, гепарина). Однако нельзя полностью исключить и то, что введение препарата Сепротин дополнительно способствовало возникновению указанных случаев кровотечений.

Влияние на способность управлять транспортными средствами, механизмами. Препарат Сепротин не влияет на способность управлять транспортными средствами и другими механизмами.

Условия отпуска. Отпускают по рецепту.

Предостережения потребителей, рекламации по качеству препарата и сообщения о развитии нежелательных реакций принимаются по адресу АО «Эс Джи Биотех»: 601125, Российская Федерация, Владимирская область, Петушинский район, п. Вольгинский, ул. Владимирская, д. 18, офис 26 Тел. (факс): +7 (495) 108 04 07.

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) от 04.06.2018 на основании ИМП от 30.08.2017.

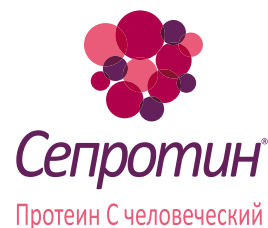
Материал предназначен только для медицинских работников. Использованные изображения не являются изображениями реальных пациентов. EXA/RU/0217

реклама. 6+

1. Адаптировано на основании инструкции по медицинскому применению препарата Сепротин. Регистрационный номер: ЛС-002446 2. Manco-Johnson MJ, et al. Thromb Haemost. 2016;116:56-68. 3. СЕПРОТИН. Summary of Product Characteristics (SmPC). EMA approved – last updated 09/2017. 4. de Kleijn ED; de Groot R; Erik Hack CE et al. Activation of protein C following infusion of protein C concentrate in children with severe meningococcal sepsis and purpura fulminans: A randomized, double-blinded, placebo-controlled, dose-finding study. Pediatric Critical Care 2003 Vol. 31, No. 6

ООО «Такеда Фармасьютикалс»: ул. Усачева, 2, стр. 1, 119048, Москва, Россия, Тел.: (495) 933 5511, факс: (495) 502 1625, www.takeda.com.ru

Дата выпуска материала: август 2020



Description of health related quality of life of children and adolescents with hemophilia from India

A. Dsouza¹, D. Nayak², A. Kurien³, M.S. Pai⁴, B.S. Nayak¹

¹Manipal College of Nursing Manipal Academy of Higher Education, Manipal, India

²TMA Pai Hospital, Udipi, Manipal Melaka Medical College, Manipal Academy of Higher Education, Manipal, India

³Manipal Melaka Medical College, Academy of Higher Education, Manipal, India

⁴Manipal Academy of Higher Education, Manipal, India

Correspondence:

Anjeline Dsouza, Manipal College of Nursing Manipal Academy of Higher Education, Manipal, India
E-mail: anjeline.d@manipal.edu

Hemophilia is a genetic disease that impairs quality of life due to its chronicity of nature where the individual will experience spontaneous bleeding or bleeding after an injury which requires frequent visits to the hospital for treatment. The objective of this study was to find the Health-related quality of life (HRQoL) of children and adolescents with moderate and severe hemophilia between 6 years and 16 years using the Haemo-QoL questionnaire. A prospective survey was carried out among 107 children and adolescents from two hemophilia treatment centers in Karnataka state. Approval was taken from the ethical committee. The data was analyzed using SPSS version 16.0. The mean age was 11.00 ± 2.98 years. Among the 107 participants, 89.70% had hemophilia A and 10.30% had hemophilia B. Moderate hemophilia was found among 54.20% participants and 45.80% had severe hemophilia. Overall, the HRQoL scores (55.41) were higher in the age group of 6–7 years compared to 8–12 years and 13–16 years. The mean HRQoL in the domain of family were: 77.84 ± 23.12 among 6–7 years, 66.00 ± 17.34 among the 8–12 years and 60.38 ± 16.72 among 13–16 years. Children demonstrated poor HRQoL in the domains of family and friends. The results indicate a need for continuous monitoring of QoL to identify better treatment methods.

Key words: hemophilia, children, adolescents, Health related quality of life, Haemo-QoL, India

Dsouza A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 12–16.

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-12-16

Hemophilia is an inherited, X-linked chromosome disorder resulting in deficiencies of clotting factor VIII, or factor IX, which primarily affects males [1]. Based on the clotting factor activity level, hemophilia is categorized as severe (< 1 IU dL⁻¹), moderate (1–5 IU dL⁻¹) and mild hemophilia (5–40 IU dL⁻¹) [2]. A developing country like India has 10% of People with Hemophilia (PWH) when we compare with the global statistics [3]. As per the 2017 survey by World Federation of Hemophilia, only 18,966 PWH from India are diagnosed and registered [4]. In a country like India where the treatment is scarce due to its cost and affordability by the individual/family affected, results in the chronicity of the problem such as joint bleeds. It is a vicious cycle, and a state of chronic condition develops where hemophilic arthritis is a major cause of morbidity in individuals with moderate and severe hemophilia [5]. Persons with hemophilia require continuous prophylactic treatment with factor concentrate to lead a better quality of life [6]. The assessment of the outcome of treatment of hemophilia is measured by the number of bleeding rates, joint status, physical functioning and health-related quality of life (HRQoL) [7].

QoL indicates the patient's perception about their life, goals, expectations and standards [8]. A chronic disease like hemophilia mostly affects HRQoL. HRQoL, measures an individual's perception about different components of wellbeing and function. This includes physical, emotional, mental, social and behavioral components [9]. HRQoL assessment is a popular, valid measure to assess the effect of care provided by health care members [10].

The majority of PWH do not have access to care in developing countries [3]. There are limited studies that report the HRQoL of PWH in developing countries like India, where the majority of individuals receive on demand factor replacement or episodic treatment after bleeding occurs. This study was conducted to assess the HRQoL among children and adolescents with moderate and severe hemophilia.

MATERIALS AND METHODS

The current research work was undertaken in two hemophilia centers (Manipal and Bengaluru) of Karnataka state in the period from February 2014 to January 2015. Participants for the study were children

(between 6 to 12 years) and adolescents (between 13 to 16 years) who had moderate and severe hemophilia. Persons with mild hemophilia, with positive inhibitor status and on prophylaxis therapy were excluded. Children below 6 years were not included as the researcher found that it was difficult for them to read and comprehend questionnaire during pilot testing. To collect data on HRQoL from children between 6 to 9 years the researcher interviewed children along with their parents. Questionnaire was distributed to above 10 years of children and they filled it. Data was collected from 107 participants during a summer camp "Asha Kiran" conducted every year by Manipal Hemophilia Center and during annual general body meetings/annual clinic review.

The sociodemographic data collected were age in years, severity of hemophilia (moderate/severe), education, family history of hemophilia and age of diagnosis. The O.P. Aggarwal et al. socioeconomic status scale with 22 questions was administered to parents and based on this socioeconomic status was categorized as upper high (≥ 76), high (61–75), upper middle (46–60), lower middle (31–45), poor (16–30) and very poor (15 and below) [11]. To assess QoL, the Haemo-QoL a standardized, validated self-report questionnaire for children, was used. It has three versions for different age groups: version I for children of 4–7 years of age (21 items), version II for children of 8–12 years of age (64 items), and version III for children of 13–16 years of age (77 items) [12].

Version I consists of 8 domains: "physical health" (4 items), "feeling" (3 items), "view of yourself" (2 items), "family" (4 items), "friends" (1 item), "other persons" (2 items), "sports and school" (3 items) and "treatment" (2 items). Physical health mainly focuses on joint mobility, fear of bleeds, pain in joints and difficulty in walking. For example, in the past four weeks my swellings hurt. Feeling sad about hemophilia, feeling lonely and worried about hemophilia were included in the domain of "feeling". "View of yourself" includes whether the child feels embarrassed due to hemophilia, comparison with other healthy boys and do they feel weak in group. Domain of "family" included questions regarding overprotection from mother and father, causing trouble/disturbance in the family due to hemophilia. Care and support from friends included in the domain of "friends". "Sports and school" mainly focuses on whether the child was able to involved in sports activities and had any difficulties in attending school.

Version II consisted of 10 domains with two additional domains i.e., "perceived support" and "dealing with hemophilia". Support from others were included in the area of perceived support. Version III

Table 1

Description of Haemo-QoL tools

Sl. No.	Domains	Number of items and (highest possible score)		
		4–7 yrs	8–12 yrs	13–16 yrs
1	Physical health	4 (12)	7 (35)	7 (35)
2	Feeling	3 (9)	7 (35)	8 (40)
3	View of yourself	2 (6)	9 (45)	10 (50)
4	Family	4 (12)	5 (25)	8 (40)
5	Friends	1 (3)	4 (20)	4 (20)
6	Other persons	2 (6)	6 (30)	6 (30)
7	Sports and school	3 (9)	8 (40)	9 (45)
8	Treatment	2 (6)	7 (35)	8 (40)
9	Perceived support	–	4 (20)	4 (20)
10	Dealing with hemophilia	–	7 (35)	7 (35)
11	Future	–	–	4 (20)
12	Relationships	–	–	2 (10)
Total items		21 (63)	64 (320)	77 (385)

Note. The dimension of relationship was not included in the study as it was culturally not relevant to the study population.

consisted of 11 subscales, where the domain of "future" and "relationship" is included. As the domain relationship was not applicable to our culture this area was not included in the present study. In the Haemo-QoL questionnaires a higher total score indicates a poorer quality of life and because each version had a different metric and a different number of subscales, the total scores were transformed into a scale from 0 to 100 thus allowing the groups to be compared [13, 14]. High values indicate high impairments in HRQoL (table 1).

Permission was obtained from the authors to use Haemo-QoL questionnaires. Psychometric testing involved the examination of validity and reliability. All the tools have got sufficient discriminant and convergent validity. The reliability score for Haemo-QoL was 0.70.

Ethical considerations

Study protocol was approved by the Institutional Ethics Committee (IEC 152/2013) of Kasturba Hospital, Manipal. Participant information sheet was given to all participants. Confidentiality of the data was assured by the researcher. Consent from parents and assent from participants were obtained before conducting the study.

The statistical analysis was done by using the SPSS version 16.0. Kolmogorov–Smirnov test was performed to test the normality of the data. Descriptive data were shown as frequency distribution or mean and standard deviation.

RESULTS

The study included 107 children and adolescents with moderate and severe hemophilia.

Table 2

Sample characteristics of children and adolescents with hemophilia ($n = 107$)

Sl. No.	Characteristics	Frequency	Percentage
1	Age in years:	11.00±2.98	
	6–7	23	21.50
	8–12	44	41.10
	13–16	40	37.40
2	Type of hemophilia:		
	hemophilia A	96	89.70
	hemophilia B	11	10.30
3	Severity of hemophilia:		
	moderate	90	54.20
	severe	49	45.80
4	Education:		
	not going to school	2	1.90
	anganawadi/nursery	7	6.50
	primary school	38	35.50
	higher primary	31	29.00
	high school	25	23.40
	PUC	04	3.70
5	Socioeconomic status:		
	very poor (≤ 15)	–	–
	poor (16–30)	20	18.70
	lower middle (31–45)	72	67.3
	upper middle (46–60)	15	14.0
	high (61–75)	–	–
	upper high (≥ 76)	–	–
6	Age at diagnosis:		
	within 1yr	65	60.70
	> 1–2 yr	21	19.60
	> 2–4 yr	12	11.20
	> 4–10 yr	7	6.50
	> 10–15 yr	2	1.90
7	Family history of hemophilia:		
	yes	51	47.70
	no	56	52.30

Table 3

Mean, standard deviation of quality of life scores among children and adolescents (Mean $\pm$ SD)

Characteristics	Age group			p value (Kruskal–Wallis test)
	6–7 years ($n = 23$)	8–12 years ($n = 44$)	13–16 years ($n = 40$)	
Physical health	49.43 $\pm$ 28.99	49.20 $\pm$ 19.63	47.05 $\pm$ 23.06	0.978
Feeling	50.75 $\pm$ 25.44	49.12 $\pm$ 20.17	44.94 $\pm$ 23.87	0.853
View of yourself	42.04 $\pm$ 32.17	48.76 $\pm$ 12.83	41.11 $\pm$ 13.03	0.550
Family	77.84 $\pm$ 23.12	66.00 $\pm$ 17.34	60.38 $\pm$ 16.72	0.033*
Friends	50.00 $\pm$ 35.35	66.00 $\pm$ 17.34	57.53 $\pm$ 25.69	0.058
Other persons	70.45 $\pm$ 10.87	34.72 $\pm$ 18.11	33.33 $\pm$ 19.96	0.001*
Sports and school	58.0 $\pm$ 16.06	63.12 $\pm$ 15.99	52.69 $\pm$ 14.28	0.014*
Treatment	50.0 $\pm$ 40.09	36.19 $\pm$ 18.98	41.45 $\pm$ 16.46	0.203
Perceived support	–	51.52 $\pm$ 27.34	49.63 $\pm$ 22.18	0.514
Dealing with hemophilia	–	40.31 $\pm$ 21.70	49.47 $\pm$ 26.84	0.083
Future	–	–	46.69 $\pm$ 15.01	–
Total score (0–100)	55.41 $\pm$ 14.48	49.62 $\pm$ 10.12	47.62 $\pm$ 9.97	–

Note. Mann–Whitney U test was done for perceived support and dealing with hemophilia as it is applicable for group II and III only; * – significant.

The mean age was 11.00 ± 2.98 years, most (41.10%) were in the age group of 8–12 years. The majority (89.70%) were diagnosed with hemophilia A, and 54.20% were diagnosed with moderate hemophilia. The majority of participants reported that there was no family history of hemophilia. Sample characteristics are described in *table 2*.

It was found that “family” (77.84), “other persons” (70.45), and “sports” (58.0) were major concerns compared to other areas in the age group of 6–7 years. HRQoL in the area of “family”, “friends”, “sports” and “school” were much impaired compared to other areas such as “treatment” and “dealing with hemophilia” in 8 to 12 years of children. It was observed that children of 13–16 years had a poor quality of life in the area “family” (60.30) and, “friends” (57.53) compared to the other areas (as high scores demonstrate worse HRQoL). The mean scores are presented in *table 3*. It was found that in the age group of 8–12 years, there was significant difference in the domain of “feeling” ($p = 0.001$), “view” ($p = 0.45$) and “other persons” ($p = 0.044$). In the age group of 13–16 years there was significant difference in the domain of “physical health” ($p = 0.033$) and “view” ($p = 0.030$).

HRQoL was compared according to the severity of children with severe and moderate hemophilia by using the Haemo-QoL scores in the age group of 6 to 12 years and 13–16 years (*figures 1, 2*). It was found that in the age group of 13–16 years in all domains severe hemophiliacs had poor quality of life compared to moderate hemophiliacs except dealing with hemophilia.

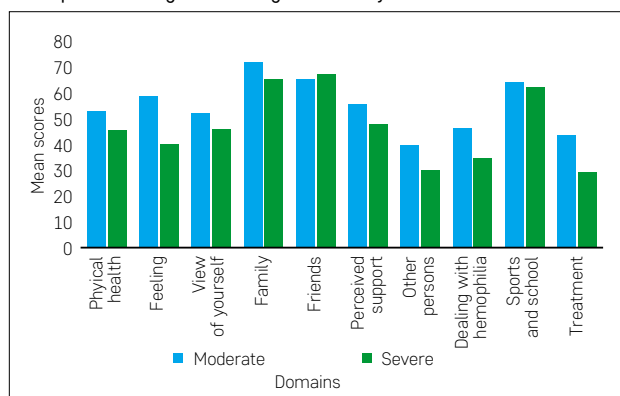
DISCUSSION

The objective of the study was to assess HRQoL in children and adolescents with hemophilia who were visiting two hemophilia treatment centers in Karnataka state, India.

The results showed that the dimension of “family and other persons” was highly impaired in children between 6 to 7 years. We also found that the quality of life was impaired in the area of “family and friends” compared to “physical health” and “feeling” in children between 8 and 12 years. Similar findings of HRQoL were reported by M.Y. Taha, M.K. Hassan in children and adolescents in Basra, Southern Iraq. The component of ‘family’ was impaired among younger children; children aged 8 to 12 years were mainly impaired in the dimension of “sports”, and adolescents in “perceived support”. QoL mainly depends on the severity of hemophilia; patients with severe hemophilia have a poor quality of life compared to patients with mild hemophilia [14]. Tantawy also studied the HRQoL of 60 severe hemophilic children and adolescents

Figure 1

Mean value of Haemo-QoL dimension based on severity of hemophilia among children aged 8 to 12 years



from Egypt by using Hemo-QoL. The scores of HRQoL were found to be widely above 50 for all subscales. It was highly significant in the dimension of “physical health” and “family” and “treatment” in different age groups. Among 8–12 years and 13–16 years group the dimension “physical health” was impaired. The dimension of family was impaired for the adolescents and the youngest group had highly impaired scores concerning treatment [15].

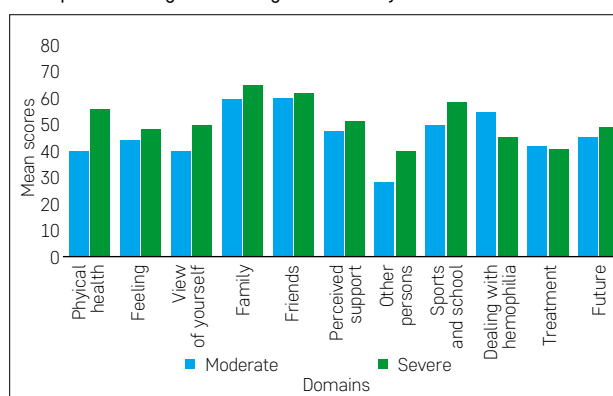
In our study we found that in group III (13 to 16 years) the areas of “family” and “friends” were not satisfactory, similar to the previous findings of St. Louis et al. [16] who reported, slightly worse HRQoL in the domains “physical functioning” and “pain” among Canadian youth with hemophilia. Ferreira et al reported that “sports and leisure” and “physical health” were the most impaired dimensions and the dimension “relationship and partners” was the least impaired among hemophiliac adults using the haem-A-QoL questionnaire [17]. Miners et al evaluated HR-QoL using the EQ-5D questionnaire among 249 adults with severe hemophilia, and reported lower levels of HR-QoL [18].

Comparison of HRQoL based on severity of hemophilia showed higher impairment among severe hemophiliacs in the age group of 13–16 years. This is similar to the study in the Southern Iraq by M.Y. Taha, M.K. Hassan who reported that compared with individuals with moderate/mild hemophilia, children and adolescents with severe hemophilia have poor HRQoL [14].

The study included a wide range of age group from 6 to 16 years, where the HRQoL scores are mostly influenced by age. Children showed a poor quality

Figure 2

Mean value of Haemo-QoL dimension based on severity of hemophilia among children aged 13 to 16 years



of life in the domain “family” which may be due to overprotection by the parents to avoid injuries due to contact sports as all participants in this study were treated with on demand factor replacement therapy.

CONCLUSION

Children and adolescents with hemophilia reported lower levels of quality of life in several areas. The results indicate a need for a continuous monitoring of QoL to identify better treatment methods. Comprehensive care and factor replacement therapy is required to improve the QoL of children and adolescents.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Dr. Sylvia Von Mackenson, Professor of Psychology, Department of Medical Psychology, University Medical Centre Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany for permitting us to use the tool and also guiding in interpretation of scores. We thank all children and adolescents with hemophilia who participated in the study. We thank all members of hemophilia society in Manipal and Bengaluru for their support in conducting this study.

FUNDING

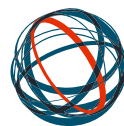
Not specified.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors have no conflicts of interest to disclose. This paper was produced as a part of the Project titled “Identification, Diagnosis, Education, and Empowerment for Action” of the people with bleeding disorders in South India (IDEAA) funded by Novo Nordisk Hemophilia Foundation, Zurich, Switzerland. The funders had no role in the study design, data collection and analysis, decision to publish or preparation of the manuscript.

References

1. Franchini M., Mannucci P.M. Hemophilia A in the third millennium. *Blood Rev* 2013; 27 (4): 179–84. DOI: 10.1016/j.blre.2013.06.002
2. Broderick C.R., Herbert R.D., Latimer J., Curtin J.A., Selvadurai H.C. The effect of an exercise intervention on aerobic fitness, strength and quality of life in children with haemophilia (ACTRN012605000224628). *BMC Hematology* 2006; 6 (1): 2. DOI: 10.1186/1471-2326-6-2
3. Bansal D., Totadri S. Comprehensive hemophilia management in India-Miles to go before we sleep. *Indian Pediatr* 2018; 55: 559–60.
4. World federation of Hemophilia (2018) Report on annual global survey 2017. World federation of Hemophilia, Montreal. Available from: <http://www1.wfh.org/publications/files/pdf-1714.pdf>
5. Boehlen F., Graft L., Berntorp E. Outcome measures in haemophilia: A systematic review. *Eur J Haematol Suppl* 2014; 76: 2–15. DOI: 10.1111/ejh.12369
6. Von Mackensen S., Harrington C., Tuddenham E., Little A., Will A., Fareh M., et al. The impact of sport on health status, psychological well-being and physical performance of adults with haemophilia. *Haemophilia* 2016; 22 (4): 521–30. DOI: 10.1111/hae.12912
7. Van den Berg H.M., Feldman B.M., Fischer K., Blanchette V., Poonnoose P., Srivastava A. Assessments of outcome in haemophilia – what is the added value of QoL tools? *Haemophilia* 2015; 21 (4): 430–5. DOI: 10.1111/hae.12731
8. Development of the World Health Organization WHOQOL-BREF Quality of Life Assessment. The WHOQOL Group. *Psychol med* 1998; 28 (3): 551–8. DOI: 10.1017/S0033291798006667
9. Rentz A., Flood E., Altisent C., Bullinger M., Klamroth R., Garrido R.P., et al.; Members of the HAEMO-QoL-A Steering Committee. Cross-cultural development and psychometric evaluation of a patient-reported health-related quality of life questionnaire for adults with haemophilia. *Haemophilia* 2008; 14 (5): 1023–34. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2008.01812.x
10. Oladapo A.O., Epstein J.D., Williams E., Ito D., Gringeri A., Valentino L.A. Health-related quality of life assessment in haemophilia patients on prophylaxis therapy: a systematic review of results from prospective clinical trials. *Haemophilia* 2015; 21 (5): e344–58. DOI: 10.1111/hae.12759
11. Aggarwal O.P., Bhasin S.K., Sharma A.K., Chhabra P., Aggarwal K., Rajoura O.P. A new instrument (scale) for measuring the socioeconomic status of a family: Preliminary study. *Indian J Community Med* 2005; 30 (4): 111–4.
12. Bullinger M.V., Von Mackensen S., Fischer K., Khair K., Petersen C., Ravens-Sieberer U., et al. Pilot testing of the 'Haemo-QoL' quality of life questionnaire for haemophiliac children in six European countries. *Haemophilia* 2002; 8 Suppl 2: 47–54. DOI: 10.1046/j.1351-8216.2001.114.doc.x
13. Von Mackensen S., Bullinger M.; Haemo-QoL Group. Development and testing of an instrument to assess the Quality of Life of Children with Haemophilia in Europe (Haemo-QoL). *Haemophilia* 2004; 10: 17–25. DOI: 10.1111/j.1355-0691.2004.00875.x
14. Taha M.Y., Hassan M.K. Health-related quality of life in children and adolescents with hemophilia in Basra, Southern Iraq. *J Pediatr Hematol Oncol* 2014; 36 (3): 179–84. DOI: 10.1097/MPH.0000000000000117
15. Tantawy A.A., Mackensen S.V., El-Laboudy M.A., Labib J.H., Moftah F., El-Telbany M.A., et al. Health-related quality of life in Egyptian children and adolescents with hemophilia A. *Pediatr Hematol Oncol* 2011; 28 (3): 222–9. DOI: 10.3109/08880018.2010.535116
16. St-Louis J., Urajnik D.J., Menard F., Cloutier S., Klaassen R.J., Ritchie B., et al. Generic and disease specific quality of life among youth and young men with hemophilia in Canada. *BMC Hematol* 2016; 16: 13. DOI 10.1186/s12878-016-0052-x
17. Ferreira A.A., Leite I.C., Bustamante-Teixeira M.T., Correa C.S., da Cruz D.T., Rodrigues Dde O., et al. Health-related quality of life in hemophilia: results of the Hemophilia-Specific Quality of Life Index (Haem-a-QoL) at a Brazilian blood center. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2013; 35(5): 314–8. DOI: 10.5581/1516-8484.20130108
18. Minners A.H., Sabin C.A., Tolley K.H., Jenkinson C., Kind P., Lee C.A. Assessing health-related quality-of-life in individuals with haemophilia. *Haemophilia* 1999; 5: 378–85. DOI: 10.1046/j.1365-2516.1999.00347.x



FarmaMondo

ОТКРЫВАЯ ДОСТУП К ИННОВАЦИОННЫМ ПРЕПАРАТАМ

100+ **70+**
ЛЕТ ОПЫТА СТРАН

3000+
ГЛОБАЛЬНАЯ СЕТЬ
МЕЖДУНАРОДНЫХ КОНТАКТОВ

ФАРМАМОНДО – швейцарский глобальный поставщик медицинских услуг. Обладая высокой экспертизой в вопросах этики, нормативной документации, работая в тесном сотрудничестве с медицинским сообществом, мы обеспечиваем доступ к передовым инновационным медицинским технологиям и препаратам по всему миру.

НАШИ ПАРТНЕРЫ



ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ КОМПАНИИ

Мы работаем с инноваторами в областях онкологии, гематологии, неврологии, эндокринологии, иммунологии, кардиологии и многих других



МЕДИЦИНСКИЕ УЧРЕЖДЕНИЯ И АПТЕКИ

Мы работаем с сотрудниками здравоохранения по всему миру, чтобы эффективные разработки становились доступными в каждой стране и в каждом регионе



ПАЦИЕНТСКИЕ ОРГАНИЗАЦИИ

Совместно с пациентскими организациями мы стремимся к тому, чтобы каждый пациент получал необходимое ему, современное лечение



ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ СООБЩЕСТВА

В партнерстве с национальными и международными профессиональными медицинскими сообществами мы стремимся сделать передовые инновационные методы лечения общедоступными для врачей

SWITZERLAND

Corporate Head Quarters
Piazza Indipendenza 3b, Chiasso, Switzerland
Tel. +41 91 6976370 | Fax +41 91 6976399

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ООО ФАРМАМОНДО
115114, Москва, ул. Дербеневская, 11
Тел: +7 495 098 01 88

По вопросам качества, нежелательных явлений и фармаконадзора: ru.safety@farmamondo.ch
По иным вопросам: ru.info@farmamondo.ch, russia@farmamondo.com

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 03.08.2020
Принята к печати 27.08.2020

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-18-25

Применение тканевой оксиметрии при гемотрансфузии у детей массой тела при рождении менее 1500 г

Д.Р. Шарафутдинова^{1,2}, Е.Н. Балашова², О.В. Ионов^{1,2}, А.Р. Киртбая^{1,2},
Ю.М. Голубцова^{1,2}, А.Ю. Рындина^{1,2}, В.В. Зубков^{1,2}, Д.Н. Дегтярев^{1,2}

¹ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва

Контактная информация:

Шарафутдинова Дияна Рашидовна, ассистент кафедры неонатологии Клинического института детского здоровья им. Н.Ф. Филатова ФГАУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет); врач-анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии им. проф. А.Г. Антонова Института неонатологии и педиатрии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России
Адрес: 119435, Москва, ул. Большая Пироговская, 2, стр. 4
E-mail: dikarush@gmail.com

Церебральная оксиметрия, или near-infrared spectroscopy (NIRS), – это неинвазивный метод, позволяющий оценить оксидативный статус (насыщение гемоглобина кислородом) главным образом в крови церебральных венозных сосудов, который все чаще применяется в клинической практике, в частности в неонатологии. Данный метод позволяет оценить не только перфузию тканей, но и определить различия между показателями церебральной и периферической оксигенации. В ряде исследований описано улучшение тканевой оксигенации, определяемой с помощью NIRS, после гемотрансфузии у недоношенных новорожденных. В нашем исследовании определены значения показателей тканевой оксиметрии до и после проведения заместительной трансфузии эритроцитсодержащих компонентов крови у недоношенных новорожденных массой тела при рождении менее 1500 г ($n = 55$). Данное клиническое исследование одобрено комиссией по этике биомедицинских исследований (протокол №12 от 17.11.2016) и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (протокол №19 от 29.11.2016). Показано, что после проведения гемотрансфузии отмечалось статистически значимое повышение показателей оксигенации тканей головного мозга (CrSO_2), внутренних органов (SrSO_2), почек (RrSO_2), индекса SCOR и снижение C-FTOE, S-FTOE. Показано, что снижение показателей оксиметрии ($\text{SCOR} \leq 0,76$, $\text{C-FTOE} \geq 0,29$, $\text{CrSO}_2 \leq 64\%$, $\text{SrSO}_2 \leq 54\%$ и $\text{RrSO}_2 \leq 56\%$) может являться дополнительным неинвазивным критерием проявлений и нарастания тяжести анемии, позволяет зарегистрировать ухудшение показателя CrSO_2 на ранней доклинической стадии заболевания и использоваться в качестве дополнительного критерия при решении вопроса о проведении гемотрансфузии.

Ключевые слова: анемия недоношенных, церебральная оксиметрия

Шарафутдинова Д.Р. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 18–25. DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-18-25

Application of near-infrared spectroscopy in extremely and very low birth weight infants for red blood cells transfusion

D.R. Sharafutdinova^{1,2}, E.N. Balashova², O.V. Ionov^{1,2}, A.R. Kirtbaya^{1,2}, J.M. Golubtsova^{1,2}, A.Yu. Ryndina^{1,2},
V.V. Zubkov^{1,2}, D.N. Degtyarev^{1,2}

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Sechenovskiy University), Moscow
²National Medical Research Center for obstetrics, gynecology and perinatology named academician V.I. Kulakov of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

Near-infrared spectroscopy (NIRS), or cerebral oximetry, is a non-invasive method for assessing the oxidative status (saturation of hemoglobin with oxygen) mainly in the blood of cerebral venous vessels, which is increasingly used in clinical practice, in particular in neonatology. This method allows us to evaluate not only tissue perfusion, but also to determine the differences between the indicators of cerebral and peripheral oxygenation. Few studies have described improvements in tissue oxygenation indicators determined by NIRS after red blood cells transfusion in premature newborns. In our study we registered the oximetry indicators before and after red blood cells transfusion in extremely and very low birth weight infants ($n = 55$). This clinical study was approved by the Biomedical Research Ethics Committee (Protocol No. 19 dated 17 November 2016) and the Scientific Council of the Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Protocol No. 19 dated 29 November 2016). Our study demonstrated a statistically significant increase in CrSO_2 , SrSO_2 , RrSO_2 and SCOR and a decrease in C-FTOE, S-FTOE after a blood transfusion. The study also showed that a decrease in NIRS values ($\text{SCOR} \leq 0.76$, $\text{C-FTOE} \geq 0.29$, $\text{CrSO}_2 \leq 64\%$, $\text{SrSO}_2 \leq 54\%$, and $\text{RrSO}_2 \leq 56\%$) can serve as an additional non-invasive measure of anemia and its progression; it helps detect a decrease in cerebral oxygenation at an early, preclinical stage of disease, and can also be used as an additional indicator of the need for red blood cell transfusions.

Key words: anemia of prematurity, near-infrared spectroscopy

Sharafutdinova D.R., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 18–25.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-18-25

Correspondence:

Diana R. Sharafutdinova, assistant of the Department of Neonatology of I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Sechenov University); neonatologist of the Neonatal Intensive Care Unit named by professor A.G. Antonov of the Institute of neonatology and pediatrics National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation
Address: Russia, 119435, Moscow, Bolshaya Pirogovskaya st., 2, build. 4
E-mail: dikarush@gmail.com

Анемия недоношенных является широко распространенной проблемой среди новорожденных детей. Переливание эритроцитсодержащих компонентов (ЭСК) крови при тяжелой анемии

является жизненно необходимой процедурой. Клинические исследования в течение последнего десятилетия по сравнению рестриктивных и либеральных стратегий переливания крови не показали стати-

стически значимых отличий в смертности и заболеваемости у недоношенных новорожденных [1–5]. При решении вопроса о проведении гемотрансфузии в большинстве случаев ориентируются на уровень гемоглобина периферической крови с учетом возраста ребенка и наличия респираторной терапии. В то же время гемотрансфузия может быть назначена при наличии симптомов анемии (апноэ, брадикардия, частые эпизоды лабильности сатурации, плохая прибавка массы тела), хотя они являются неспецифическими. Таким образом, необходим маркер, который отражает уровень оксигенации тканей и может быть использован для определения потребности в гемотрансфузии.

Церебральная оксиметрия (ЦО), или near-infrared spectroscopy (NIRS), – это неинвазивный метод определения степени насыщения кислородом тканей головного мозга [6, 7].

В 1977 г. F.F. Jobsis впервые использовал NIRS для измерения оксигенации тканей у новорожденных [7]. В зависимости от различий спектральных свойств окисленного (оксигемоглобина) и восстановленного (дезоксигемоглобина) гемоглобина с помощью NIRS можно мониторировать и получать объективную информацию об изменениях оксигенации тканей головного мозга (CrSO_2), а также других внутренних органов (SrSO_2), таких как кишечник, печень, почки и мышцы [8–11].

Метод NIRS в настоящее время все чаще применяется в клинической практике, в частности в неонатологии, для оценки состояния церебральной и периферической оксигенации [12]. Так, ЦО применялась во время проведения реанимационных мероприятий недоношенным детям для анализа гипо- и гипероксигенации [13] и при нерегулярном дыхании у доношенных новорожденных [14]. Также проводились исследования по применению ЦО в неонатальной хирургии [15].

Ряд исследований, в которых изучалась возможность применения показателей NIRS в качестве критериев для проведения гемотрансфузии, доказывают перспективность использования данного метода в неонатальной практике [4, 8–11, 16].

В исследовании S.M. Bailey и соавт. ($n = 30$) после проведения гемотрансфузии было выявлено улучшение показателей CrSO_2 и тканевой оксигенации внутренних органов, в частности, кишечника. При этом было показано, что соотношение SrSO_2 и CrSO_2 (SCOR) может также являться показателем для проведения гемотрансфузии. Дети с анемией недоношенных имели низкие значения SCOR ($\leq 0,73$), которые статистически значимо повышались после проведения заместительной трансфузии ЭСК крови [8]. В исследовании S.P. Wardle и соавт. было показано, что повышение уровня FTOE $> 0,47$ у недо-

ношенных детей может являться дополнительным критерием для проведения заместительной трансфузии ЭСК крови [17].

Цель исследования: разработать показания к проведению заместительной трансфузии ЭСК крови у недоношенных новорожденных с очень низкой (ОНМТ) и экстремально низкой (ЭНМТ) массой тела при рождении на основании определения CrSO_2 и SrSO_2 .

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведенное нами клиническое исследование одобрено комиссией по этике биомедицинских исследований (протокол №12 от 17.11.2016) и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (протокол №19 от 29.11.2016).

На базе клинических отделений ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России в период с декабря 2017 г. по февраль 2019 г. был проведен анализ 55 случаев выхаживания недоношенных детей, родившихся с ОНМТ и ЭНМТ, которым потребовалось проведение 1 заместительной трансфузии ЭСК крови и более в течение госпитализации.

В исследование не включались недоношенные дети с множественными пороками развития, врожденными пороками сердца, хромосомными патологиями, метаболическими заболеваниями, гемолитической болезнью новорожденных, врожденной анемией, фето-фетальным трансфузионным синдромом, монохориальные двойни, недоношенные, которым проводились гемотрансфузии в первые 7 суток жизни; недоношенные, умершие до проведения 1-й гемотрансфузии.

Гестационный возраст новорожденных детей составил от 26 до 33 недель.

Диагноз «анемия» выставлялся при снижении концентрации гемоглобина и/или гематокрита более чем на 2 стандартных отклонения от средних значений показателей, установленных для данного постнатального возраста (таблица 1) [18].

В отличие от детей более старшего возраста показания к заместительной гемотрансфузии в периоде новорожденности определялись с учетом степени дыхательной недостаточности, а также методов и режимов проводимой респираторной терапии. У детей с тяжелой дыхательной недостаточностью, требовавшей проведения традиционной или высокочастотной искусственной вентиляции легких (ИВЛ) с «жесткими режимами» ($\text{MAP} > 8$ см H_2O и $\text{FiO}_2 > 0,4$), гемотрансфузия проводилась при снижении концентрации в венозной крови гемоглобина ниже 115 г/л и/или гематокрита ниже 35%. У недоношенных детей на традиционной ИВЛ при $\text{MAP} < 8$ см вод. ст. или при необходимости неинва-

Таблица 1

Параметры красной крови у новорожденных и детей первых 2 месяцев жизни

Table 1

Red blood cell parameters in neonates and infants in the first 2 months of life

Параметр Parameter	Гемоглобин, г/дл Hemoglobin, g/dL		Гематокрит, % Hematocrit, %	
	Mean	-2 SD	Mean	-2 SD
Пуповина Umbilical cord	16,5	13,5	51	42
Возраст: Age:				
1–3 дня 1–3 days	18,5	14,5	56	45
1 неделя 1 week	17,5	13,5	54	42
2 недели 2 weeks	16,5	12,5	51	39
1 месяц 1 month	14,0	10,0	43	31
2 месяца 2 months	11,5	9,0	35	28

Примечание. Mean – среднее значение; SD – стандартное отклонение.
Note. SD – standard deviation.

живной вентиляции легких с $FiO_2 \leq 0,4$ – при снижении концентрации в венозной крови гемоглобина менее 100 г/л и/или гематокрита менее 30%. У недоношенных детей, которым требовалась респираторная поддержка методами СРАР/ВПК, решение о проведении заместительной трансфузии ЭСК крови принималось при снижении концентрации в венозной крови гемоглобина менее 85 г/л и/или гематокрита менее 25%, а также в случаях, если у ребенка сохранялась зависимость от дополнительного кислорода и имелся хотя бы 1 из следующих симптомов: сохраняющаяся более 24 ч тахикардия (частота сердечных сокращений более 180 уд/мин); тахипноэ (частота дыхательных движений более 80/мин); прибавка массы тела менее 10 г/кг/сут в течение 4 дней, несмотря на калорийность питания более 100 ккал/кг/сут; учащение кратковременных апноэ или появление апноэ, сопровождающихся брадикардией; повышение концентрации лактата в периферической крови более 2,5 ммоль/л. Выявление концентраций в венозной крови гемоглобина менее 70 г/л и гематокрита менее 20% являлось абсолютным показанием для проведения заместительной трансфузии ЭСК крови.

Концентрации в венозной крови гематокрита и гемоглобина определялись при проведении клинического анализа крови, который выполнялся на анализаторе Sysmex XT 4000i. Кровь в объеме 0,2 мл набиралась в пробирку для клинического анализа крови с этилендиаминтетрауксусной кислотой.

В процессе клинического наблюдения особое внимание уделялось следующим клиническим признакам анемии: бледность кожных покровов, учащение эпизодов кратковременных апноэ или появление апноэ, сопровождающихся брадикардией, повышение потребности в дополнительной дотации кислорода на 10% и выше, тахикардия более 180 уд/мин, снижение динамики прибавки массы

тела (прибавка менее 10 г/кг/сут в течение 4 дней, несмотря на калорийность питания более 100 ккал/кг/сут), а также лабораторным признакам: снижение концентрации в венозной крови гемоглобина и гематокрита, повышение концентрации лактата.

Всем новорожденным проводилась оценка показателей оксиметрии с помощью NIRS до и после заместительной трансфузии ЭСК крови. Регистрировались такие параметры оксиметрии, как $CrSO_2$, тканевая оксигенация почек ($RrSO_2$), $SrSO_2$. Для оценки ЦО ($CrSO_2$) датчик ставился поперечно на середину лба ребенка, для оценки $RrSO_2$ – продольно по парастернальной линии в проекции почек справа и слева (высчитывалось среднее арифметическое значение), для оценки уровня $SrSO_2$ – поперечно в субумбиликальную область. Мониторинг в указанные сроки проводился в течение 6–24 ч. В целях защиты нежной кожи детей делали перерывы в измерении каждые 3 ч в течение 30 мин. Проводился расчет фракции экстракции кислорода (Fractional Tissue Oxygen Extraction, FTOE), которая отвечает за баланс между поступлением кислорода в ткани и его потреблением, данный показатель вычислялся по формулам:

$$\text{Cerebral FTOE (C-FTOE)} = (SpO_2 - CrSO_2)/SpO_2;$$

$$\text{Renal FTOE (R-FTOE)} = (SpO_2 - RrSO_2)/SpO_2;$$

$$\text{Splanchnic FTOE (S-FTOE)} = (SpO_2 - SrSO_2)/SpO_2.$$

Соотношение $SrSO_2$ и $CrSO_2$ (индекс SCOR) вычислялся по формуле:

$$SCOR = SrSO_2/CrSO_2.$$

По данным литературы, параметры NIRS: FTOE > 0,47, SCOR ≤ 0,73 и $CrSO_2 \leq 55\%$ свидетельствуют о нарушении оксигенации тканей.

Статистическая обработка данных выполнена с помощью программы SPSS v.17.0. Для каждого количественного параметра были определены медиана (Me), 25-й и 75-й квартили (LQ;UQ). При проведении сравнительного анализа количественных данных в исследуемых группах ввиду отсутствия нормального распределения данных применялись методы непараметрической статистики: тест Крускала–Уоллиса для сравнения данных в нескольких группах, U-критерий Манна–Уитни для 2 групп. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$ (95% уровень значимости) и при $p < 0,01$ (99% уровень значимости) при попарном сравнении. С помощью ROC-анализа были определены наиболее значимые диагностические маркеры, а также оценивалось качество бинарной классификации. Качество модели в зависимости от AUC (площадь под кривой) определялось исходя из следующей градации: 0,9–1,0 – отличное; 0,8–0,9 – очень хорошее; 0,7–0,8 – хорошее; 0,6–0,7 – среднее; до 0,6 – неудовлетворительное. Оценка прогностической значимости исследуемых показателей проводилась по результатам ROC-анализа. Сравнение связанных между собой

Таблица 2

Сравнение клинических признаков анемии у пациентов до и после проведения заместительной трансфузии ЭСК крови

Table 2

A comparison of clinical signs of anemia in patients before and after a replacement transfusion of red blood cells

Параметр Parameter	Перед гемотрансфузией Before blood transfusion	6–24 ч после гемотрансфузии 6–24 hours after blood transfusion	p
Клинические признаки анемии, n Clinical signs of anemia, n	21 (38,2%)	5 (9,1%)	< 0,001*
Бледность кожных покровов, n Pale skin, n	21 (38,2%)	2 (3,6%)	< 0,001*
Апноэ, n Apnea, n	10 (18,2%)	3 (5,5%)	< 0,001*
Повышение потребности в дополнитель- ной дотации O ₂ на 10% и более, n An increase in need for additional oxygen supply by ≥ 10 %, n	10 (18,2%)	2 (3,6%)	0,025*
Тахикардия выше 180 уд/ мин, n Tachycardia > 180 bpm, n	8 (14,5%)	2 (3,6%)	0,039*

Примечание. Здесь и в табл. 3 и 4: * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05).

Note. Here and in Tables 3 and 4: * – statistically significant difference between the parameters (p < 0.05).

Таблица 3

Сравнение лабораторных параметров перед и после проведения заместительной трансфузии ЭСК крови (Me (LQ;UQ))

Table 3

A comparison of laboratory parameters before and after a replacement transfusion of red blood cells (Me (LQ;UQ))

Параметр Parameter	Перед гемотрансфузией Before blood transfusion	6–24 ч после гемотрансфузии 6–24 hours after blood transfusion	p
Лактат, ммоль/л Lactate, mmol/L	1,9 (1,6;2,2)	1,9 (1,3;2,3)	0,381
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/L	84 (75,5;91,5)	143 (136;158)	< 0,001*
Гематокрит, % Hematocrit, %	25 (23;28,2)	39 (37;43,7)	< 0,001*

Таблица 4

Сравнение показателей оксиметрии перед, во время и после проведения заместительной трансфузии ЭСК крови (Me (LQ;UQ))

Table 4

A comparison of oximetry values before, during and after a replacement transfusion of red blood cells (Me (LQ;UQ))

Параметр Parameter	Перед гемотрансфузией Before blood transfusion	Во время гемотрансфузии During blood transfusion	6–24 ч после гемотрансфузии 6–24 hours after blood transfusion	p
CrSO ₂	68,5 (67;72)	78 (74;82)	74 (72;78)	< 0,001*
SrSO ₂	55 (53;60)	66(62;66)	63 (62;64)	< 0,001*
RrSO ₂	56 (55;58)	67 (62;66)	64 (62;66)	< 0,001*
C-FTOE	0,26 (0,24;0,30)	0,17 (0,15;0,25)	0,19 (0,16;0,28)	< 0,001*
S-FTOE	0,40 (0,38;0,42)	0,28 (0,26;0,29)	0,32 (0,30;0,34)	< 0,001*
R-FTOE	0,38 (0,36;0,40)	0,29 (0,28;0,31)	0,32 (0,30;0,33)	< 0,001*
SCOR	0,79 (0,73;0,84)	0,84 (0,80;0,86)	0,86 (0,82;0,87)	< 0,001*

совокупностей (анализ «до–после»; одни и те же пациенты на разных этапах наблюдения) при оценке количественных параметров проводилось с помощью критерия Уилкоксона. При сравнении связанных между собой совокупностей (одни и те же пациенты на 3 этапах наблюдения) применялся критерий Фридмана.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всем недоношенным новорожденным (n = 55), включенным в исследование, проводился анализ изменения клинко-лабораторных показателей и параметров оксиметрии до и после проведения заместительной трансфузии ЭСК крови (таблицы 2–4).

Перед проведением заместительной трансфузии ЭСК крови у 21 (38,2%) ребенка отмечались следующие клинические признаки анемии: бледность кожных покровов, учащение эпизодов кратковременных апноэ или появление апноэ, сопровождающихся брадикардией, повышение потребности в дополнительной дотации кислорода на 10% и более, тахикардия более 180 уд/мин, снижение динамики прибавки массы тела (прибавка менее 10 г/кг/сут в течение 4 дней, несмотря на калорийность питания более 100 ккал/кг/сут). После проведения заместительной трансфузии ЭСК крови частота клинических признаков анемии статистически значимо уменьшилась (таблица 2).

После проведения гемотрансфузии отмечалось статистически значимое повышение уровней гемоглобина и гематокрита, что, очевидно, и свидетельствует о лабораторной эффективности проведенной заместительной гемотрансфузии. Концентрация лактата периферической крови до и после заместительной трансфузии ЭСК крови статистически значимо не отличалась, что затрудняет применение данного параметра для определения показаний к проведению гемотрансфузии (таблица 3).

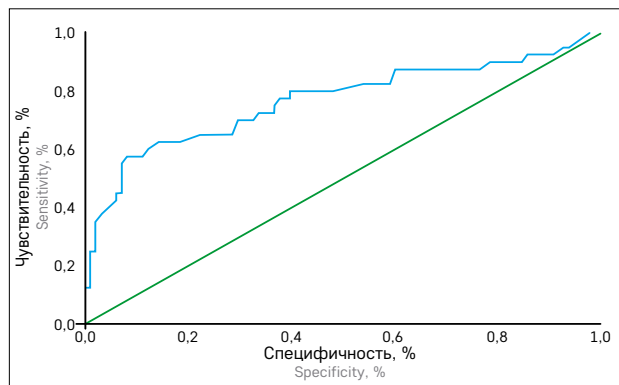
После проведения заместительной трансфузии ЭСК крови отмечалось статистически значимое изменение таких показателей оксиметрии, как CrSO₂, SrSO₂, RrSO₂, SCOR и снижение C-FTOE, S-FTOE (таблица 4).

Рисунок 1

ROC-кривая логистической регрессии, соответствующей взаимосвязи уровней гематокрита 24% и SCOR $\leq 0,73$ перед заместительной трансфузией ЭСК крови

Figure 1

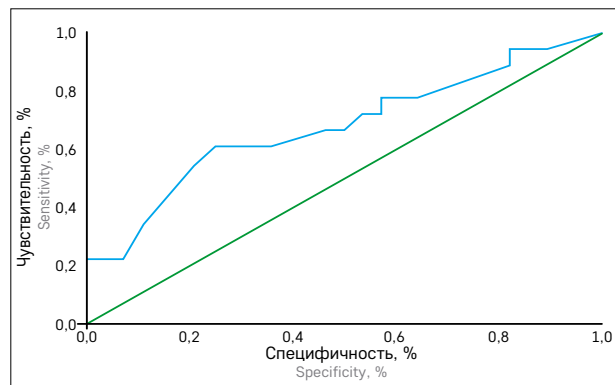
ROC curve of logistic regression corresponding to the relationship between hematocrit level of 24% and SCOR ≤ 0.73 before a replacement transfusion of red blood cells

**Рисунок 2**

ROC-кривая логистической регрессии, соответствующей взаимосвязи уровней гематокрита $\leq 20\%$ и SCOR $\leq 0,76$

Figure 2

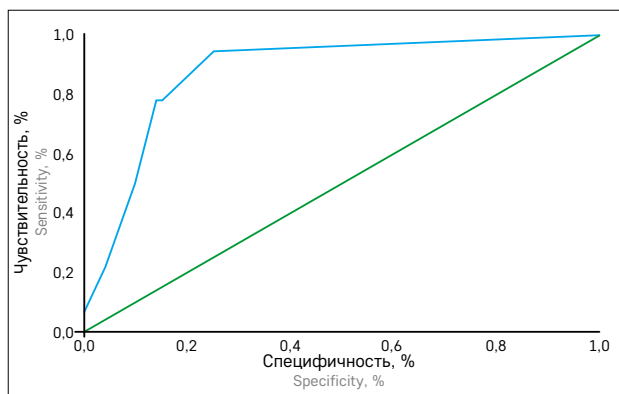
ROC curve of logistic regression corresponding to the relationship between hematocrit level $\leq 20\%$ and SCOR ≤ 0.76

**Рисунок 3**

ROC-кривая логистической регрессии, соответствующей взаимосвязи уровней гематокрита $\leq 20\%$ и C-FTOE $\geq 0,29$

Figure 3

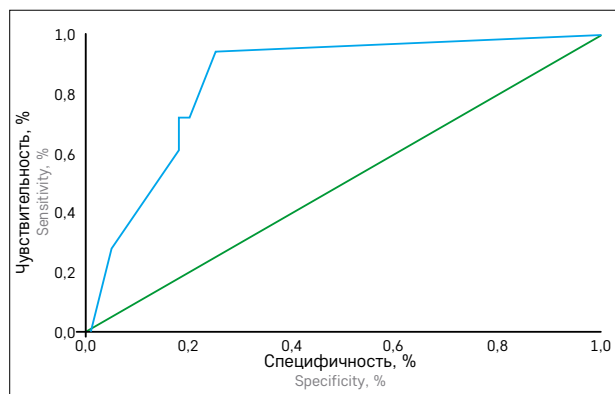
ROC curve of logistic regression corresponding to the relationship between hematocrit level $\leq 20\%$ and C-FTOE ≥ 0.29

**Рисунок 4**

ROC-кривая логистической регрессии, соответствующей взаимосвязи уровней гематокрита $\leq 20\%$ и CrSO₂ $\leq 64\%$

Figure 4

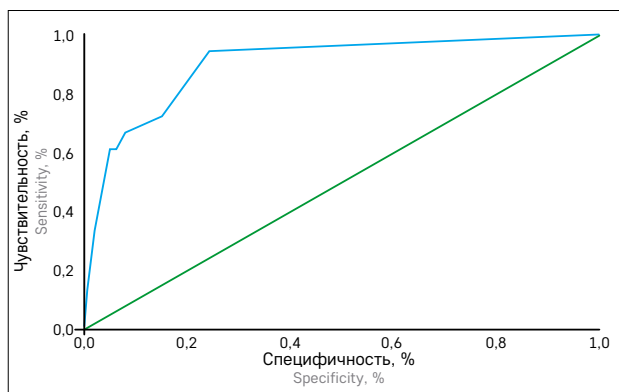
ROC curve of logistic regression corresponding to the relationship between hematocrit level $\leq 20\%$ and CrSO₂ $\leq 64\%$

**Рисунок 5**

ROC-кривая логистической регрессии, соответствующей взаимосвязи уровней гематокрита $\leq 20\%$ и SrSO₂ $\leq 54\%$

Figure 5

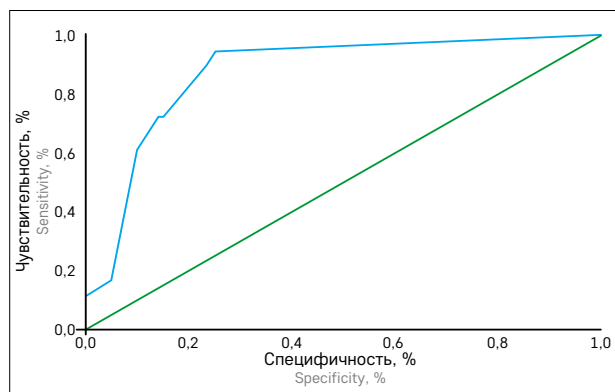
ROC curve of logistic regression corresponding to the relationship between hematocrit level $\leq 20\%$ and SrSO₂ $\leq 54\%$

**Рисунок 6**

ROC-кривая логистической регрессии, соответствующей взаимосвязи уровней гематокрита $\leq 20\%$ и RrSO₂ $\leq 56\%$

Figure 6

ROC curve of logistic regression corresponding to the relationship between hematocrit level $\leq 20\%$ and RrSO₂ $\leq 56\%$



При проведении регрессионного анализа было выявлено, что значения $SCOR \leq 0,73$ перед гемотрансфузией (нижняя граница, по данным ряда исследований) соответствуют уровню гематокрита 24%, гемоглобину 82 г/л (рисунки 1). $AUC = 0,776$. Стандартная ошибка 0,051; 95% доверительный интервал (ДИ): 0,667–0,866; $p < 0,001$. Чувствительность 72,5%, специфичность 70,4%.

Учитывая, что абсолютным показанием для проведения гемотрансфузии является снижение концентрации гематокрита в венозной крови менее 20%, были рассчитаны показатели оксиметрии, соответствующие данному значению.

Согласно данным нашего исследования, концентрации гематокрита в венозной крови менее 20% (абсолютное показание для проведения заместительной трансфузии ЭСК крови) соответствовало значению $SCOR \leq 0,76$, $p = 0,043$ (рисунки 2). $AUC = 0,679$. Стандартная ошибка 0,085; 95% ДИ: 0,512–0,845. Чувствительность 61,1%, специфичность 72,0%. При этом концентрация гемоглобина в венозной крови составляла от 73,5 до 86 г/л.

Концентрации гематокрита в венозной крови менее 20% перед заместительной трансфузией ЭСК крови соответствовало значению $C\text{-FTOE} \geq 0,29$, $p < 0,001$ (рисунки 3). $AUC = 0,874$. Стандартная ошибка 0,041; 95% ДИ: 0,793–0,955. Чувствительность 77,8%, специфичность 85,9%.

Концентрации гематокрита в венозной крови менее 20% перед заместительной гемотрансфузией соответствовало значению $CrSO_2 \leq 64\%$, $p < 0,001$ (рисунки 4). $AUC = 0,847$. Стандартная ошибка 0,043. 95% ДИ: 0,762–0,931. Чувствительность 88,9%, специфичность 75,8%.

По данным нашего исследования, концентрации гематокрита в венозной крови менее 20% перед заместительной гемотрансфузией соответствовало значению $SrSO_2 \leq 54\%$ (рисунки 5). $AUC = 0,898$. Стандартная ошибка 0,040; 95% ДИ: 0,819–0,978, $p < 0,001$. Чувствительность 94,4%, специфичность 75,8%.

Концентрации гематокрита в венозной крови менее 20% перед заместительной гемотрансфузией соответствовало значению $RrSO_2 \leq 56\%$ (рисунки 6). $AUC = 0,871$. Стандартная ошибка 0,042; 95% ДИ: 0,790–0,953, $p < 0,001$. Чувствительность 88,9%, специфичность 76,8%.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Существующие протоколы и рекомендации по проведению гемотрансфузий не стандартизированы, могут существенно отличаться в различных отделениях реанимации и интенсивной терапии новорожденных и в большинстве случаев не отражают

истинную потребность ребенка в проведении данной процедуры. В настоящее время отсутствуют достоверные клинические или лабораторные маркеры, используемые при решении вопроса о проведении гемотрансфузии, за исключением значений гемоглобина и гематокрита [19–23]. При этом создание протоколов переливания, уменьшение пороговых значений гемоглобина при решении вопроса о трансфузии и следование им врачами приводит к снижению частоты и объема трансфузий (уровень доказательности 1+, рекомендаций А).

Такие клинические признаки, как тахикардия, апноэ, эпизоды снижения сатурации, вид респираторной терапии, повышение потребности в дополнительной дотации кислорода, увеличение концентрации лактата являются неспецифичными для недоношенных новорожденных. Например, эпизоды лабильности сатурации, апноэ и тахикардия могут быть связаны с другими патологическими состояниями, такими как гастроэзофагеальный рефлюкс, респираторный дистресс-синдром, апноэ недоношенных, течение инфекционного процесса. В результате очень часто у таких детей после проведения гемотрансфузии не отмечается улучшение состояния. Изменение концентрации лактата – продукта анаэробного метаболизма – свидетельствует о тканевой гипоксии и, соответственно, тканевой гипоперфузии. Согласно исследованию L.K. Fredrickson и соавт., концентрация лактата может снижаться после проведения гемотрансфузии [24]. Однако ввиду того, что лактат – это прежде всего маркер нарушенной тканевой перфузии, изменение его концентрации помимо анемии недоношенных может наблюдаться при сердечной недостаточности, неонатальном сепсисе, неадекватной вентиляции легких, использовании таких инотропных препаратов, как адреналин, при нестабильной гемодинамике. По результатам нашего исследования изменение концентрации лактата не является специфическим маркером ухудшения периферической перфузии и его изолированное повышение нецелесообразно использовать при решении вопроса о необходимости проведения трансфузии ЭСК крови.

В последние годы появляются новые способы и критерии оценки показаний и эффективности гемотрансфузии. Одним из них является метод определения тканевой оксигенации с помощью NIRS. Данный метод позволяет оценить различия между показателями церебральной и периферической оксигенации [17, 25]. В ряде исследований описано улучшение показателей тканевой оксигенации, определенных с помощью NIRS, после заместительной трансфузии ЭСК крови у недоношенных новорожденных [8, 9, 24, 26]. В частности, в исследовании G. Sandal и соавт., в которое были включены 23 новорожденных

гестационного возраста менее 30 недель с установленным диагнозом «анемия недоношенных», проводилась оценка изменений показателей тканевой оксигенации до и после гемотрансфузии [27]. По результатам проведенного исследования были выявлены улучшение церебральной и периферической оксигенации и повышение показателя SCOR после проведения гемотрансфузии вне зависимости от ее длительности.

В исследовании J.C. van Hoften и соавт. было продемонстрировано повышение показателя CrSO₂ и снижение FTOE после проведения гемотрансфузии [16].

По данным S.M. Bailey и соавт., такие параметры NIRS, как C-FTOE > 0,47, SCOR ≤ 0,73 и CrSO₂ ≤ 55% свидетельствуют о нарушении оксигенации.

В нашем исследовании было показано, что после проведения гемотрансфузии статистически значимо повышаются показатели оксиметрии CrSO₂, SrSO₂, RrSO₂, SCOR и снижаются C-FTOE, S-FTOE.

В ходе нашего исследования были получены результаты показателя SCOR, сопоставимые с литературными данными. Значения SCOR ≤ 0,73 перед гемотрансфузией соответствовали концентрации гематокрита венозной крови 24%, гемоглобину 82 г/л ($p < 0,001$).

Изменения значений, свидетельствующие о нарушении ЦО (C-FTOE > 0,47, CrSO₂ ≤ 55%), у детей в нашем исследовании не отмечались, вероятно, это обусловлено тем, что гемотрансфузии с учетом уровня гематокрита, гемоглобина, параметров вентилиции и клинического состояния детей проводились при более высоких значениях ЦО (CrSO₂) и более низких значениях C-FTOE.

Учитывая, что абсолютным показанием для проведения гемотрансфузии является снижение концентрации в венозной крови гематокрита менее 20%, были рассчитаны показатели оксиметрии, соответствующие данному значению гематокрита. Согласно нашему исследованию, концентрации в венозной крови гематокрита менее 20% (абсолютное показание для проведения заместительной трансфузии ЭСК крови) перед трансфузией соответствовало значению SCOR ≤ 0,76 ($p = 0,043$). При этом концентрация гемоглобина венозной крови составляла от 73,5 до 86 г/л. Концентрации в венозной крови гематокрита менее 20% перед трансфузией соответствовали значениям C-FTOE ≥ 0,29 и CrSO₂ ≤ 64% ($p < 0,001$).

В ряде исследований показано, что снижение показателя оксиметрии органов брюшной полости и SCOR свидетельствуют об ишемии кишечника у недоношенных новорожденных [27–29]. В исследовании K. Braski и соавт. [30] проводилась оценка уровня SCOR у недоношенных детей с анемией до и после

проведения энтерального питания. Перед проведением энтерального питания в среднем значение SCOR соответствовало 0,72, после энтерального питания – 0,69, уровни SrSO₂ – 47% и 45% соответственно. Авторы предположили, что у недоношенных новорожденных гестационного возраста менее 32 недель с анемией (гематокрит венозной крови менее 28%) отмечается гипоперфузия кишечника, которая может ухудшиться после энтерального питания, потенциально увеличивая риск развития непереносимости кормления или некротизирующего энтероколита.

По данным нашего исследования, концентрации гематокрита в венозной крови перед заместительной гемотрансфузией менее 20% соответствовали следующие значения тканевой оксиметрии: SrSO₂ ≤ 54% и RrSO₂ ≤ 56% ($p < 0,001$). У исследуемых детей во время и после проведения гемотрансфузии не отмечалось признаков непереносимости энтерального питания, а также случаев некротизирующего энтероколита.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, снижение показателей оксиметрии может свидетельствовать о нарастании тяжести анемии и использоваться в качестве дополнительного критерия для проведения гемотрансфузии. Абсолютными показаниями для проведения заместительной гемотрансфузии являются следующие значения ЦО и периферической оксиметрии: SCOR ≤ 0,76, C-FTOE ≥ 0,29, CrSO₂ ≤ 64%, SrSO₂ ≤ 54% и RrSO₂ ≤ 56%. Определение концентрации лактата в периферической крови не является специфическим критерием анемии, требующим проведения гемотрансфузии. Однако для оценки прогностической эффективности и более широкого применения в клинической практике метода тканевой оксиметрии у недоношенных новорожденных требуются дальнейшие исследования.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Sharafutdinova D.R. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9626-5481>

Balashova E.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3741-0770>

Ionov O.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4153-133X>

Kirtbaya A.R. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7628-8157>

Ryndin A.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5560-8759>

Zubkov V.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8366-5208>

Degtyarev D.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8975-2425>

Литература

- Holst L.B., Petersen M.W., Haase N., Perner A., Wetterslev J. Restrictive versus liberal transfusion strategy for red blood cell transfusion: systematic review of randomised trials with meta-analysis and trial sequential analysis. *BMJ* 2015; 350: h1354. DOI: 10.1136/bmj.h1354
- Holst L.B., Haase N., Wetterslev J., Werner J., Guttormsen A.B., Karlsson S., et al. Lower versus higher hemoglobin threshold for transfusion in septic shock. *N Engl J Med* 2014; 371 (15): 1381–91. DOI: 10.1056/NEJMoa1406617
- Murphy G.J., Pike K., Rogers C.A., Wordsworth S., Stokes E.A., Angelini G.D., et al. Liberal or restrictive transfusion after cardiac surgery. *N Engl J Med* 2015; 372 (11): 997–1008. DOI: 10.1056/NEJMoa1403612
- Nielsen N.D., Martin-Loeches I., Wentowski C. The Effects of red Blood Cell Transfusion on Tissue Oxygenation and the Microcirculation in the Intensive Care Unit: A Systematic Review. *Transfus Med Rev* 2017; 31 (4): 205–22. DOI: 10.1016/j.tmr.2017.07.003
- Шарафутдинова Д.Р., Балашова Е.Н., Ионов О.В., Киртбая А.Р., Голубцова Ю.М., Зубков В.В. и др. Эффективность применения различных схем терапии рекомбинантным человеческим эритропоэтином у детей с очень и экстремально низкой массой тела. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2019; 18 (2): 75–82.
- Highton D. Noninvasive cerebral oximetry: is there light at the end of the tunnel? *Curr Opin Anaesthesiol* 2010; 23 (5): 576–81. DOI: 10.1097/aco.0b013e32833e1536
- Jobsis F.F. Non-invasive, infra-red monitoring of cerebral O₂ sufficiency, blood volume, HbO₂-Hb shifts and blood flow. *Acta Neurol Scand Suppl* 1977; 64: 452–3.
- Bailey S.M., Hendricks-Munoz K.D., Wells J.T., Mally P. Packed red blood cell transfusion increases regional cerebral and splanchnic tissue oxygen saturation in anemic symptomatic preterm infants. *Am J Perinatol* 2010; 27 (6): 445–53. DOI: 10.1055/s-0030-1247598
- Bailey S.M., Hendricks-Munoz K.D., Mally P. Splanchnic-cerebral oxygenation ratio (SCOR) values in healthy term infants as measured by near-infrared spectroscopy (NIRS). *Pediatr Surg Int* 2013; 29 (6): 591–5. DOI: 10.1007/s00383-013-3285-9
- Bailey S.M., Hendricks-Munoz K.D., Mally P. Splanchnic-cerebral oxygenation ratio as a marker of preterm infant blood transfusion needs. *Transfusion* 2012; 52 (2): 252–60. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2011.03263.x
- Murkin J.M., Arango M. Near-infrared spectroscopy as an index of brain and tissue oxygenation. *Br J Anaesth* 2009; 103 Suppl 1: i3–13. DOI: 10.1093/bja/aep299
- Aktas S., Ergenekon E., Ozcan E., Aksu M., Unal S., Hirfanoglu I.M., et al. Effects of blood transfusion on regional tissue oxygenation in preterm newborns are dependent on the degree of anaemia. *J Paediatr Child Health* 2019; 55 (10): 1209–13. DOI: 10.1111/jpc.14378
- Baerts W., Lemmers P.M., van Bel F. Cerebral oxygenation and oxygen extraction in the preterm infant during desaturation: effects of increasing FiO₂ to assist recovery. *Neonatology* 2011; 99 (1): 65–72. DOI: 10.1159/000302717
- Urlesberger B., Pichler G., Gradnitzer E., Reiterer F., Zobel G., Müller W. Changes in cerebral blood volume and cerebral oxygenation during periodic breathing in term infants. *Neuropediatrics* 2000; 31 (2): 75–81. DOI: 10.1055/s-2000-7477
- Giliberti P., Mondì V., Conforti A., Haywood Lombardi M., Sgrò S., Bozza P., et al. Near infrared spectroscopy in newborns with surgical disease. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011; 24 (Suppl 1): 56–8. DOI: 10.3109/14767058.2011.607673
- Van Hoften J.C., Verhagen E.A., Keating P. Cerebral tissue oxygen saturation and extraction in preterm infants before and after blood transfusion. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2010; 95 (5): F352–8. DOI: 10.1136/adc.2009.163592
- Wardle S.P., Garr R., Yoxall C.W. A pilot randomized controlled trial of peripheral fractional oxygen extraction to guide blood transfusions in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002; 86 (1): 22–7. DOI: 10.1136/fn.86.1.f22
- Dallman P.R. Blood and blood-forming tissues. In: Rudolph A., ed. *Pediatrics*. 16th ed. New York: Appleton-Century-Crofts; 1977. P. 1111.
- Неонатология: клинические рекомендации. Под ред. Володина Н.Н., Дегтярева Д.Н., Крючко Д.С. М.: Гэотар-Медиа; 2019. С. 95–170.
- Неонатология: национальное руководство. Краткое издание. Под ред. Володина Н.Н. М.: Гэотар-Медиа; 2013. С. 548–59.
- Детская гематология: клинические рекомендации. Под ред. Румянцев А.Г., Масчана А.А., Жуковской Е.В. М.: Гэотар-Медиа; 2015. С. 182–92.
- Олс Р., Едер М. Гематология, иммунология и инфекционные болезни. Пер. с англ. Под ред. Румянцев А.Г. М.: Логосфера; 2013. С. 408.
- Шарафутдинова Д.Р., Балашова Е.Н., Павлович С.В., Ионов О.В., Киртбая А.Р., Леньошкина А.А. и др. Эффективность профилактики и лечения ранней анемии недоношенных у новорожденных детей, родившихся с экстремально низкой и очень низкой массой тела. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2017; 16 (4): 13–20.
- Fredrickson L.K., Bell E.F., Cress G.A., Johnson K.J., Zimmerman M.B., Mahoney L.T., et al. Acute physiological effects of packed red blood cell transfusion in preterm infants with different degrees of anaemia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2010; 96 (4): 249–53. DOI: 10.1136/adc.2010.191023
- Takahashi D., Matsui M., Shigematsu R. Effect of transfusion on the venous blood lactate level in very low-birthweight infants. *Pediatr Int* 2009; 51 (3): 321–5. DOI: 10.1111/j.1442-200X.2008.02733.x
- Höller N., Urlesberger B., Mileder L., Baik N., Schwaberg B., Pichler G. Peripheral Muscle Near-Infrared Spectroscopy in Neonates: Ready for Clinical Use? A Systematic Qualitative Review of the Literature. *Neonatology* 2015; 108 (4): 233–45. DOI: 10.1159/000433515
- Sandal G., Oguz S.S., Erdevi O., Akar M., Uras N., Dilmen U. Assessment of red blood cell transfusion and transfusion duration on cerebral and mesenteric oxygenation using near-infrared spectroscopy in preterm infants with symptomatic anemia. *Transfusion* 2014; 54 (4): 1100–5. DOI: 10.1111/trf.12359
- Fortune P.M., Wagstaff M., Petros A.J. Cerebro-splanchnic oxygenation ratio (CSOR) using near infrared spectroscopy may be able to predict splanchnic ischaemia in neonates. *Intensive Care Med* 2001; 27: 1401–7. DOI: 10.1007/s001340100994
- Patel A.K., Lazar D.A., Burrin D.G., Smith E.O., Magliaro T.J., Stark A.R., et al. Abdominal near-infrared spectroscopy measurements are lower in preterm infants at risk for necrotizing enterocolitis. *Pediatr Crit Care Med* 2014; 15: 735–41. DOI: 10.1097/PCC.0000000000000211
- Braski K., Weaver-Lewis K., Loertscher M., Ding Q., Shen X., Baserga M. Splanchnic cerebral oxygenation ratio decreases during enteral feedings in anemic preterm infants: Observations under near infrared spectroscopy. *Neonatology* 2018; 113 (1): 75–80. DOI: 10.1159/000481396

Treatment lines of childhood chronic ITP: A retrospective single-center analysis

Ayat Yasser¹, Eman Omar Khasahba¹, Mohamed Abd El Rahman Shokeir¹,
Suzy Abd El Mabood^{1, 2}

¹Mansoura University, Egypt

²Mansoura University Children Hospital, Egypt

Correspondence:

Suzy Abd El Mabood, MD, Hematology,
Oncology and Bone Marrow Transplantation
Unit, Pediatric Department, Faculty
of Medicine, Mansoura University, Egypt,
Mansoura University Children Hospital
E-mail: suzyabdelmabood@yahoo.com

Immune thrombocytopenia (ITP) is the most common cause of thrombocytopenia in children. Approximately 20–25% of children develop a chronic course of the disease. Many treatment options are available, including chronic use of first-line therapies, e.g., corticosteroids, intravenous immunoglobulin or anti-Rh-D, and second-line therapies, including dexamethasone, high-dose methylprednisolone, intensive immunosuppressants, rituximab, thrombopoietin receptor agonists (TPO-RAs), splenectomy, and many others; however, none of these treatments have been determined to be the best. In this study, we retrospectively reviewed the course, response to different treatment lines and outcome of children with chronic ITP over a period of ten years to compare the efficacy of different treatment options, aiming to determine a scale of priority for selecting the most cost-effective treatment. A retrospective study was conducted and included children diagnosed with chronic ITP from January 2008 until December 2018 who were followed at the Pediatric Hematology Unit of Mansoura University Children Hospital, Mansoura, Egypt. The study proposal was approved on February 14, 2017 (approval No 17.02.59) by the Institutional Review Board (IRB) of the Faculty of Medicine, Mansoura University, Egypt. All research steps were conducted according to the Declaration of Helsinki. The diagnosis of chronic ITP was based upon the persistence of thrombocytopenia lasting for more than 1 year with or without therapy. Bone marrow aspiration was performed for all patients to confirm the diagnosis of chronic ITP and exclude other causes of thrombocytopenia. Data relevant to chronic ITP patients diagnosed from 2008 to 2018 were retrieved from the Electronic Data System of Hospital Management of Mansoura University Children Hospital, including age, sex, diagnosis date, duration of chronicity, treatment given during the chronic phase and response. Treatment regimen was immune modulatory therapies (high-dose dexamethasone, IV rituximab or low-dose dexamethasone + azathioprine), thrombopoietin receptor agonists (TPO-RAs) (eltrombopag or romiplostim). Out of 405 newly diagnosed ITP patients in a period of 10 years in our center, 103 progressed to chronic disease, of whom 29 were lost to follow-up, while 74 patients were followed at the hematology outpatient clinic and enrolled in the current study (32 males and 42 females, median age – 10 years, median initial platelet count – $16 \times 10^9/l$). Approximately one-third of patients (25–33.8%) were managed conservatively; of them, 19 patients achieved sustained remission, and 6 patients needed another treatment line. Forty-six (62%) patients received immunomodulatory therapies. Twenty-eight patients (37.8%) were treated with TPO-RAs. No differences were observed between the 3 types of immunomodulatory therapies regarding relapse-free survival and duration of remission (p value: 0.7). Additionally, no differences were noted according to relapse-free survival among those treated with eltrombopag and romiplostim (p value: 0.7). The number of male children who had a sustained response was significantly higher than that of female children among patients receiving immunomodulatory therapies (71.4% vs 28.6%, respectively) (p value 0.01). There were significantly more patients on TPO-RA with a sustained response than patients on immune modulators, and consequently, the number of patients who relapsed on immunomodulators was higher than that of those on TPO-RA (67.9% vs 30.4% compared to 69.9% vs 32.1%, p value 0.01). Many of our patients who received immunomodulators and failed to achieve or lost a response before 2015 were switched to TPO-RAs with comparable efficacy apart from sustainability, which was in favor of the latter. Additionally, among the types of immunomodulators, rituximab did not show superior efficacy compared to other types, with lower costs for the latter, leading to the abandonment of its use, particularly in limited resource countries such as ours.

Key words: *immune thrombocytopenia, immunomodulators, thrombopoietin receptor agonists, sustained response, complete response, partial response*

Yasser A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 26–30.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-26-30

Immune thrombocytopenia (ITP) is the most common cause of thrombocytopenia in children [1]. Although the disease is self-limited in most children, with a resolution rate of 80% of patients within 6–12 months from diagnosis, approximately 20–25% of children develop a chronic course of the disease [2]. The

goal of treatment for chronic ITP is to provide a safe platelet count that prevents major bleeding, rather than achieving a normal platelet count [3]. Many treatment options are available, including chronic use of first-line therapies, e. g., corticosteroids, intravenous immunoglobulin or anti-Rh-D, and second-line thera-

pies, including dexamethasone, high-dose methylprednisolone, intensive immunosuppressants, rituximab, thrombopoietin receptor agonists (TPO-RAs), splenectomy, and many others [4]; however, none of these treatments have been determined to be the best [5]. In this study, we retrospectively reviewed the course, response to different treatment lines and outcome of children with chronic ITP over a period of ten years to compare the efficacy of different treatment options, aiming to determine a scale of priority for selecting the most cost-effective treatment.

MATERIALS AND METHODS

A retrospective study was conducted and included children diagnosed with chronic ITP from January 2008 until December 2018 who were followed at the Pediatric Hematology Unit of Mansoura University Children Hospital, Mansoura, Egypt. The study proposal was approved on February 14, 2017 (approval No 17.02.59) by the Institutional Review Board (IRB) of the Faculty of Medicine, Mansoura University, Egypt. All research steps were conducted according to the Declaration of Helsinki. The diagnosis of chronic ITP was based upon the persistence of thrombocytopenia lasting for more than 1 year with or without therapy [6]. Bone marrow aspiration was performed for all patients to confirm the diagnosis of chronic ITP and exclude other causes of thrombocytopenia. Data relevant to chronic ITP patients diagnosed from 2008 to 2018 were retrieved from the Electronic Data System of Hospital Management of Mansoura University Children Hospital, including age, sex, diagnosis date, duration of chronicity, treatment given during the chronic phase and response.

Classification of management lines during the chronic phase:

- Conservative: No pharmaceutical treatment was needed.
- Second-line therapy:
 - Immune modulatory therapies: high-dose dexamethasone, IV rituximab or low-dose dexamethasone (1 mg/day) + azathioprine.
 - Thrombopoietin receptor agonists (TPO-RAs): eltrombopag or romiplostim

Definitions of treatment response:

Complete response (CR): A platelet count $> 100 \times 10^9/L$, measured on two occasions seven days apart and the absence of bleeding [7].

Partial response (PR): A platelet count $> 30 \times 10^9/L$ or more than a two-fold increase in platelet count from baseline, measured on two occasions, seven days apart and the absence of bleeding [7].

No response (NR): A platelet count $< 30 \times 10^9/L$, a less than 2-fold increase in platelet count from baseline or the presence of bleeding. Platelet count must

be measured on two occasions more than a day a part [7].

Loss of response (LR): A platelet count $< 30 \times 10^9/L$, a less than 2-fold increase in platelet count from baseline or the presence of bleeding after achieving an initial complete/partial response. Platelet count must be measured on two occasions more than a day a part [7].

Sustained response: A sustained response was considered when the patient attained CR or PR until the end of the study.

RESULTS

Out of 405 newly diagnosed ITP patients, 103 progressed to chronic disease, of whom 29 were lost to follow-up, while 74 patients were followed at the hematology outpatient clinic and enrolled in the current study. Clinicolaboratory features of the studied group are shown in *table 1*.

Figure 1 demonstrates the lines of treatment given for the studied patients during the chronic phase.

Table 1
Clinicolaboratory features of the studied patients

Features	Studied group (n = 74)
Age in years: Median (Min–Max)	10 (2.5–18)
Sex, n (%):	
Male	32 (43.2)
Female	42 (56.8)
Age of initial presentation (years): Median (Min–Max)	6 (0.5–14.5)
Duration of disease (years): Median (Min–Max)	3 (1–10)
Initial platelet count ($\times 10^9/L$): Median (Min–Max)	16 (0–76.0)
Need for rescue therapy*, n (%)	49 (66.2)

Note. * – means treatment given to control breakthrough bleeding episodes during the chronic phase.

Approximately one-third of patients (25–33.8%) were managed conservatively; of them, 19 patients achieved sustained remission, and 6 patients needed another treatment line. Forty-six (62%) patients received immunomodulatory therapies (rituximab, high-dose dexamethasone and azathioprine + low-dose dexamethasone). Twenty-eight patients (37.8%) were treated with TPO-RAs.

No differences were observed between the 3 types of immunomodulatory therapies regarding relapse-free survival and duration of remission (*p* value: 0.7) (*figure 2*). Additionally, no differences were noted according to relapse-free survival among those treated with eltrombopag and romiplostim (*p* value: 0.7) (*figure 3*).

In *table 2*, the number of male children who had a sustained response was significantly higher than that of female children among patients receiving immunomodulatory therapies (71.4% vs 28.6%, respectively) (*p* value: 0.01). There were significantly more patients

Figure 1
Scheme for treatment lines used for chronic ITP patients

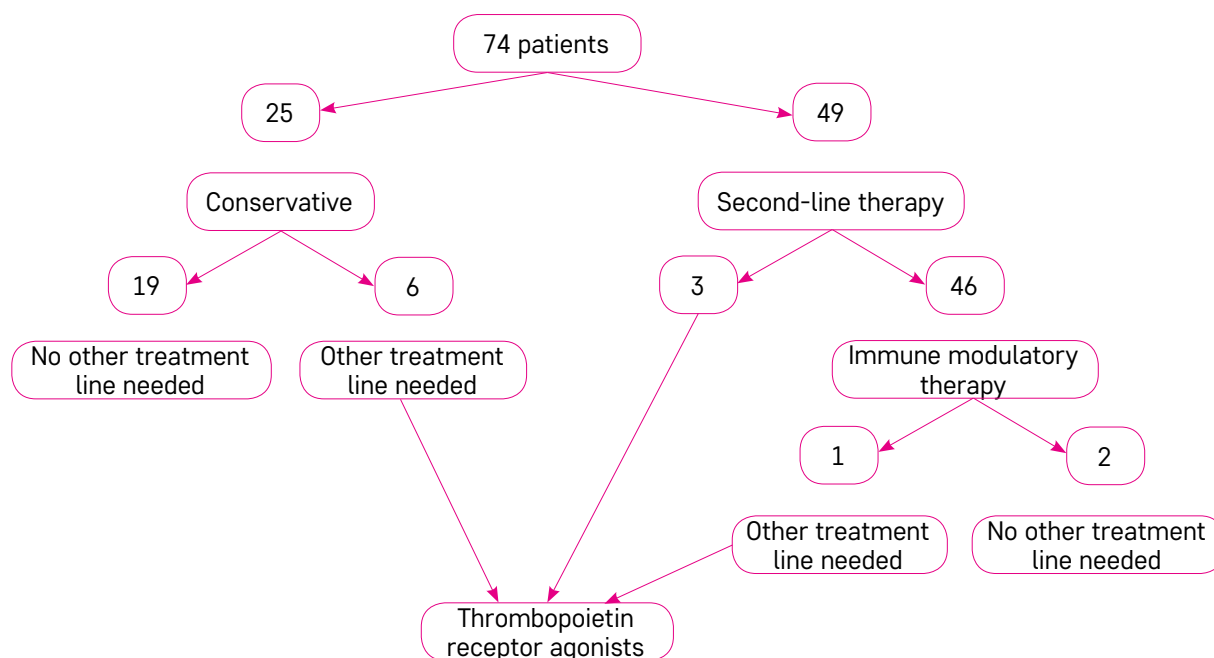
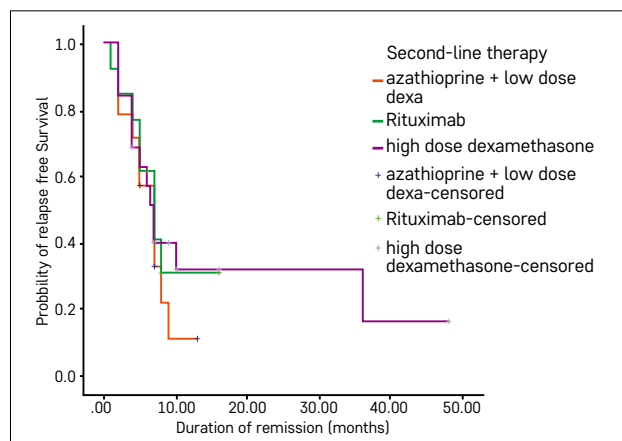


Figure 2
Kaplan–Meier analysis of relapse-free survival for different immunomodulatory therapies. There was no significant difference between them (p value: 0.7); the proportion of relapsed patients treated with azathioprine + low-dose dexamethasone at 9 months was 10%, while 30% of patients treated with rituximab relapsed within 8 months. Additionally, 16% of patients treated with high-dose dexamethasone relapsed within 36 months

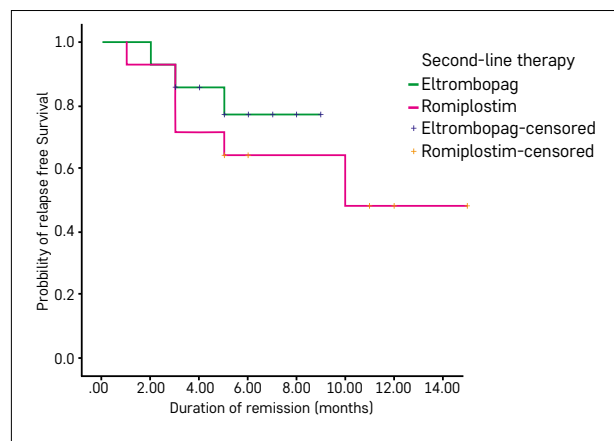


on TPO-RA with a sustained response than patients on immune modulators, and consequently, the number of patients who relapsed on immunomodulators was higher than that of those on TPO-RA (67.9% vs 30.4% compared to 69.9% vs 32.1%, p value: 0.01) (table 3).

DISCUSSION

ITP is a common autoimmune disorder known to have a benign course in many children [8], yet 5–10% of chronic cases lead to serious bleeding, and the treatment of these patients remains a real challenge [9]. Since there is no consensus on the management of

Figure 3
Kaplan–Meier analysis of relapse-free survival of thrombopoietin receptor agonists. There was no statistically significant difference between the two groups (p value: 0.7); 53% of patients treated with eltrombopag relapsed within 10 months, while 71% of patients treated with romiplostim relapsed within 2 months



chronic ITP in children, the treatment depends largely on clinical expertise and observations [10].

In the present study, we analyzed the response to different treatment lines given for chronic ITP patients in our institute over the last 10 years by conducting a retrospective cohort study. There were more females than males (56.8%). This is similar to previous studies showing female predominance in chronic ITP patients, supporting the idea that female sex is a risk factor for chronicity [11–13]. The median age at initial presentation was 6 years, which emphasized what Güngör et al. [14] found: the main age of presentation for childhood ITP relapsed from 2 to 10 years.

Table 2
Patients' clinical characteristics in relation to their response to immunomodulatory therapy

Clinical features	Sustained response	Lost response	p value
Age in years: Mean (SD)	10.3 (3.8)	10.4 (4.1)	0.7
Age of disease onset: Median (Min–Max)	8.5 (0.5–12.5)	6 (0.5–14.5)	0.8
Sex, n (%): Male Female	10 (71.4) 4 (28.6)	10 (31.3) 22 (68.8)	0.01
Disease duration: Median (Min–Max)	2 (1.5–9.5)	3 (1.5–10)	0.3

Table 3
Comparison between immune modulators and thrombopoietin receptor agonists according to patients' response

Treatment Response	Immune modulators n = 46	Thrombopoietin Receptor Agonists n = 28	p value
Complete response, n (%)	9 (19.6)	13 (46.4)	0.09
Response, n (%)	24 (52.2)	10 (35.7)	0.9
No response, n (%)	13 (28.3)	5 (17.9)	1
Sustained response, n (%)	14 (30.4)	19 (67.9)	0.01
Loss of response, n (%)	32 (69.6)	9 (32.1)	
Remission duration, months Median (Min–Max)	6.2 (1–48)	6 (1–15)	0.7

Approximately one-third of patients (33.8%) were managed conservatively, and a large portion of these children achieved remission. This supports the idea that children will likely recover within an additional 1–2 years [15]. Furthermore, these results are consistent with the current guidelines suggesting that observation is a safe alternative for children who do not experience serious bleeding and limits the indication for the use of platelet-enhancing therapies [16].

No difference in response to immunomodulatory therapies was noted. Although many researchers have studied the effect of combined rituximab and high-dose dexamethasone in the treatment of chronic ITP with satisfactory results [17, 18], to the best of our knowledge, we did not find previous studies comparing the efficacy of different immune modulatory therapies.

The initial response rate to rituximab was approximately 54%; however, only 15% of patients maintained remission. Although the response to rituximab was encouraging for many patients, the sustainability of remission is difficult. Patel et al. [19] reported an initial 57% response rate to rituximab, but the sustained response was only 26%. It was thought that relapse is secondary to the return of B cells to higher levels

than those in individuals who never relapsed [20]. In this study, the male response to immunomodulatory therapy was greater than that of females. Similarly, Chapin et al. [18] found a better male initial response to combined rituximab and high-dose dexamethasone in adults with ITP; nevertheless, this was not observed in children. This was not agreed upon by Jayabose et al. [21], who did not find prognostic significance for sex in relation to response to treatment with WinRho, IVIG or steroids in children with chronic ITP.

No differences were reported in response or sustainability of response between both types of TPO-RAs (eltrombopag and romiplostim). Our results are consistent with those of a systemic review analyzing five randomized controlled trials studying the efficacy and safety of eltrombopag and romiplostim in children with persistent and chronic ITP, and no difference was noted between the two types [22]. Although both TPO-RAs showed good initial response, approximately one-third of our children lost their response to each type of TPO-RA. The sustainability of remission with the use of TPO-RAs is not as high as the short-term response. This is in agreement with previous studies reporting that the long-term response was much lower than the short-term response, reaching 30% compared to 90% for the initial response [23–25].

Our study reflects the variability in treatment options for chronic ITP. Additionally, the priority of selecting second-line therapy in the era of TPO-RAs and approval of eltrombopag for children in 2015 as well as the approval of off-label use of romiplostim were changed [26, 27]. Many of our patients who received immunomodulators and failed to achieve or lost a response before 2015 were switched to TPO-RAs with comparable efficacy apart from sustainability, which was in favor of the latter. Additionally, among the types of immunomodulators, rituximab did not show superior efficacy compared to other types, with lower costs for the latter, leading to the abandonment of its use, particularly in limited resource countries such as ours.

Although many treatment options are available for chronic ITP, to date, no single therapy can suit all patients. Further studies are ongoing to identify new medications for difficult unresponsive cases.

FUNDING

Not specified.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

- Bennett C.M., Tarantino M. Chronic immune thrombocytopenia in children: epidemiology and clinical presentation. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009; 23 (6): 1223–38. DOI: 10.1016/j.hoc.2009.08.002
- Blanchette V., Bolton-Maggs P. Childhood Immune Thrombocytopenic Purpura: Diagnosis and Management. *Hematol Oncol Clin North Am* 2010; 24 (1) 249–73. DOI: 10.1016/j.hoc.2009.11.004
- Labarque V., Van Geet C. Clinical practice: immune thrombocytopenia in paediatrics. *Eur J Pediatr* 2014; 173 (2): 163–72. DOI: 10.1007/s00431-013-2254-6
- Bredlau A.L., Semple J.W., Segel G.B. Management of Immune Thrombocytopenic Purpura in Children. *Pediatric Drugs* 2011; 13 (4): 213–23. DOI: 10.2165/11591640-000000000-00000
- Journeyake J.M. Childhood immune thrombocytopenia: role of rituximab, recombinant thrombopoietin and other new therapeutics. *American Society of Hematology Education Program Book* 2012; 2012: 444–9. DOI: 10.1182/asheducation-2012.1.444
- Rodeghiero F., Stasi R., Gernsheimer T., Michel M., Provan D., Arnold D.M., et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. *Blood* 2009; 113 (11): 2386–93. DOI: 10.1182/blood-2008-07-162503
- Neunert C., Lim W., Crowther M., Cohen A., Solberg Jr L., Crowther M. The American Society of Hematology evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood* 2011; 117 (16): 4190–207. DOI: 10.1182/blood-2010-08-302984
- Stiakaki E., Perdikiogianni C., Thomou C., Markaki E.A., Katzilakis N., Tsirigotaki M., et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood: Twenty years of experience in a single center. *Pediatrics International* 2012; 54 (4): 524–7. DOI: 10.1111/j.1442-200X.2012.03606.x
- Terrell D.R., Beebe L.A., Vesely S.K., Neas B.R., Segal J.B., George J.N. The incidence of immune thrombocytopenic purpura in children and adults: a critical review of published reports. *Am J Hematol* 2010; 85 (3): 174–80. DOI: 10.1002/ajh.21616
- Kim T.O., Despotovic J., Lambert M.P. Eltrombopag for use in children with immune thrombocytopenia. *Blood Adv* 2018; 2 (4): 454–61. DOI: 10.1182/bloodadvances.2017010660
- Zeller B., Rajantie J., Hedlund-Treutiger I., Tedgard U., Wesenberg F., Jonsson O.G., et al. Childhood idiopathic thrombocytopenic purpura in the Nordic countries: epidemiology and predictors of chronic disease. *Acta Paediatr* 2005; 94 (2): 178–84. DOI: 10.1111/j.1651-2227.2005.tb01887.x
- Glanz J., France E., Xu S., Hayes T., Hambridge S. A population based, multisite cohort study of the predictors of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura in children. *Pediatrics* 2008; 121 (3): e506–12. DOI: 10.1542/peds.2007-1129
- Donato H., Pico'n A., Martinez M., Rapetti M.C., Rosso A., Gomez S., et al. Demographic data, natural history, and prognostic factors of idiopathic thrombocytopenic purpura in children: a multicentered study from Argentina. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 52 (4): 491–6. DOI: 10.1002/pbc.21872
- Güngör T., Arman Bilir Ö., Koşan Çulha V., Güngör A., Kara A., Azık F.M., et al. Retrospective evaluation of children with immune thrombocytopenic purpura and factors contributing to chronicity. *Pediatr Neonatol* 2019; 60 (4): 411–6. DOI: 10.1016/j.pedneo.2018.10.002
- Labrosse R., Vincent M., Nguyen U.-P., Chartrand C., Di Liddo L., Pastore Y. Using a standardised protocol was effective in reducing hospitalisation and treatment use in children with newly diagnosed immune thrombocytopenia. *Acta Paediatr* 2017; 106 (10): 1617–23. DOI: 10.1111/apa.13859
- Provan D., Stasi R., Newland A.C., Blanchette V.S., Bolton-Maggs P., Bussel J.B., et al. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood* 2010; 115 (2): 168–86. DOI: 10.1182/blood-2009-06-225565
- Bussel J.B., Lee C.S., Seery C., Imahiyerobo A.A., Thompson M.V., Catellier D. Rituximab and three dexamethasone cycles provide responses similar to splenectomy in women and those with immune thrombocytopenia of less than two years duration. *Haematologica* 2014; 99: 1264–71. DOI: 10.3324/haematol.2013.103291
- Chapin J., Lee C.S., Zhang H., Zehnder J.L., Bussel J.B. Gender and duration of disease differentiate responses to rituximab-dexamethasone therapy in adults with immune thrombocytopenia. *Am J Hematol* 2016; 91 (9): 907–11. DOI: 10.1002/ajh.24434
- Patel V.L., Mahevas M., Lee S.Y., Stasi R., Cunningham-Rundles S., Godeau B., et al. Outcomes 5 years after response to rituximab therapy in children and adults with immune thrombocytopenia. *Blood* 2012; 119 (25): 5989–95. DOI: 10.1182/blood-2011-11-393975
- Cooper N., Stasi R., Cunningham-Rundles S., Feuerstein M.A., Leonard J.P., Amadori S., et al. The efficacy and safety of B-cell depletion with anti-CD20 monoclonal antibody in adults with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2004; 125 (2): 232–9. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.04889.x
- Jayabose S., Levendoglu-Tugal O., Ozkaynak M.F., Visintainer P., Sandoval C. Long-term outcome of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura in children. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004; 26 (11): 724–6. DOI: 10.1097/00043426-200411000-00007
- Zhang J., Liang Y., Ai Y., Li X., Xie J., Li Y., et al. Eltrombopag versus romiplostim treatment of children with persistent or chronic immune thrombocytopenia: a systematic review incorporating an in direct comparison meta-analysis. *Sci Rep* 2018; 8 (1): 576. DOI: 10.1038/s41598-017-19099-8
- Kuter D.J., Bussel J.B., Lyons R.M., Pullarkat V., Gernsheimer T.B., Senecal F.M., et al. Efficacy of romiplostim in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura: a double-blind randomized controlled trial. *Lancet* 2008; 371 (9610): 395–403. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60203-2
- Bussel J.B., Kuter D.J., Pullarkat V., Lyons R.M., Guo M., Nichol J.L. Safety and efficacy of long-term treatment with romiplostim in thrombocytopenic patients with chronic ITP. *Blood* 2009; 113 (10): 2161–71. DOI: 10.1182/blood-2008-04-150078
- Saleh M.N., Bussel J.B., Cheng G., Meyer O., Bailey C.K., Arning M., et al.; EXTEND Study Group. Safety and efficacy of eltrombopag for treatment of chronic immune thrombocytopenia: results of the long-term, open-label EXTEND study. *Blood* 2013; 121 (3): 537–45. DOI: 10.1182/blood-2012-04-425512
- Bussel J.B., de Miguel P.G., Despotovic J.M., Grainger J.D., Sevilla J., Blanchette V.S. Eltrombopag for the treatment of children with persistent and chronic immune thrombocytopenia (PETIT): a randomised, multicentre, placebo-controlled study. *Lancet Haematol* 2015; 2 (8): e315–25. DOI: 10.1016/S2352-3026(15)00114-3
- Tarantino M.D., Bussel J.B., Blanchette V.S., Despotovic J., Bennett C., Raj A., et al. Romiplostim in children with immune thrombocytopenia: a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet* 2016; 388 (10039): 45–54. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00279-8

Я живу!



ЭЛИЗАРΙΑ®

ЭКУЛИЗУМАБ

- Первый биоаналог экулизумаба*
- Быстро и стабильно снижает активность терминального комплекса комплемента*
- Предотвращает внутрисосудистый гемолиз у больных пароксизмальной ночной гемоглобинурией*
- Улучшает качество жизни пациентов*



Краткая инструкция по медицинскому применению препарата Элизария®. Регистрационный номер: ЛП-005395-110319. **Фармакодинамика.** Экулизумаб подавляет активность терминального комплекса комплемента человека, обладая высокой аффинностью к его C5-компоненту, вследствие чего полностью блокируется расщепление компонента C5 на C5a и C5b и образование терминального комплекса комплемента C5b-9. Таким образом, экулизумаб восстанавливает регуляцию активности комплемента в крови и предотвращает внутрисосудистый гемолиз у пациентов с пароксизмальной ночной гемоглобинурией (ПНГ), а также предотвращает избыточную активность терминального комплекса у пациентов с атипичным гемолитико-уремическим синдромом (аГУС), где причиной заболевания является генетически обусловленная дисрегуляция системы комплемента. С другой стороны, дефицит терминального комплекса комплемента сопровождается повышенной частотой развития инфекций инкапсулированными микроорганизмами, главным образом, менингококковой инфекции. При этом экулизумаб поддерживает содержание ранних продуктов активации комплемента, необходимых для опсонизации микроорганизмов и выведения иммунных комплексов. Лечение препаратом Элизария® сопровождается быстрым и стабильным снижением активности терминального комплекса комплемента. **Показания к применению.** Препарат Элизария® показан для лечения пациентов с: пароксизмальной ночной гемоглобинурией (ПНГ). Эффективность экулизумаба подтверждена у пациентов с гемолизом и сопутствующими клиническими симптомами, свидетельствующими о высокой активности заболевания, вне зависимости от потребности в гемотрансфузиях в анамнезе; атипичным гемолитико-уремическим синдромом (аГУС). **Противопоказания для применения.** Повышенная чувствительность к экулизумабу, белкам хомачков или другим компонентам препарата. Период грудного вскармливания. Активная инфекция *Neisseria meningitidis*. Отсутствие вакцинации против *Neisseria meningitidis* (если нет соответствующей профилактической антибиотикотерапии в течение 2 недель после вакцинации). **Способ применения и дозы.** Внутривенно капельно в течение 25–45 минут для взрослых и в течение 1–4 часов для пациентов детского возраста. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия: курс лечения для взрослых пациентов (≥ 18 лет) включает 4-недельный начальный цикл с последующим циклом поддерживающей терапии. Начальный цикл: 600 мг препарата Элизария® 1 раз в неделю в течение 4 недель. Поддерживающая терапия: 900 мг препарата Элизария® на 5-й неделе, с последующим введением 900 мг препарата Элизария® каждые 14 ± 2 дней. Атипичный гемолитико-уремический синдром: курс лечения для взрослых пациентов (≥ 18 лет) включает 4-недельный начальный цикл с последующим циклом поддерживающей терапии. Начальный цикл: 900 мг препарата Элизария® 1 раз в неделю в течение 4 недель. Поддерживающая терапия: 1200 мг препарата Элизария® на 5-й неделе, с последующим введением 1200 мг препарата Элизария® каждые 14 ± 2 дней. **Применение в педиатрии.** Для пациентов с ПНГ и аГУС моложе 18 лет доза препарата Элизария® определяется в зависимости от веса ребенка. **Побочные действия.** Наиболее частым нежелательным явлением при лечении экулизумабом являлась головная боль (отмечалась, главным образом, в начальном цикле терапии). Наиболее тяжелым нежелательным явлением являлся менингококковый сепсис. **Организация, принимающая претензии по качеству и сообщения о нежелательных реакциях от потребителей:** АО «ГЕНЕРИУМ», 601125, Владимирская обл., Петушинский район, пос. Вольгинский, ул. Заводская, стр. 273, т/ф +7 (49243) 72-5-20, 72-5-14, pv@generium.ru.

Для получения более подробной информации ознакомьтесь с полной инструкцией по медицинскому применению лекарственного препарата Элизария® перед его назначением.

Материал предназначен для специалистов здравоохранения.

*Отчет о клиническом исследовании III фазы, № ECU-PNH-III, 2018. – 285 с.

АО «ГЕНЕРИУМ». 123112, г. Москва, ул. Тестовская, д. 10, подъезд 2
Тел./факс: +7 (495) 988-47-94, www.generium.ru

 **Generium**
Pharmaceutical

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 02.12.2019
Принята к печати 28.01.2020

Контактная информация:

Пшеничная Ксения Ивановна,
д-р мед. наук, профессор кафедры
детских болезней им. И.М. Воронцова
ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России
Адрес: 194100, Санкт-Петербург,
ул. Литовская, 2
E-mail: kpshenichnaya@yandex.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-32-35

Определение гемоглобина ретикулоцитов – современный подход к диагностике железодефицитных состояний у детей

К.И. Пшеничная, Т.М. Ивашикина, М.В. Зайдина

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург
СПб ГБУЗ «Консультативно-диагностический центр для детей», Санкт-Петербург

Дефицит железа является одним из самых распространенных микроэлементозов, особенно в растущем организме. Диагностика ранней стадии дефицита железа у детей необходима для своевременного лечения. Его диагностика представляет сложности при сопутствующих заболеваниях, когда биохимические показатели обмена железа могут оказаться недостаточно информативными. В этой связи показатели гемоглобина в ретикулоцитах (Ret-Hb) и дельта-гемоглобина (Delta-He) могут оказаться полезными, поскольку позволяют раньше выявить истинный дефицит железа и не зависят от сопутствующей патологии. В работе определялись Ret-Hb и Delta-He в структуре клинического анализа крови на гематологических анализаторах Sysmex XT-4000 и Sysmex XN-9000 (Япония) у 24 детей в возрасте от 1 года до 18 лет: с абсолютным латентным дефицитом железа у 5 детей и железодефицитной анемией у 19 пациентов. Показатель Ret-Hb оказался сниженным в среднем до $24,2 \pm 3,5$ пг, при норме, по данным литературы, не менее 28 пг. Через 2 нед лечения при тенденции к повышению других показателей анализа крови Ret-Hb вырос до $26,0 \pm 2,9$ пг. Показатель Delta-He, сниженный исходно до $2,9 \pm 0,9$ пг (нижняя граница 4,0 пг), повысился до $6,3 \pm 3,4$ пг. Результаты наблюдения позволяют рассматривать показатели Ret-Hb и Delta-He при дефиците железа как информативные, экономичные и доступные, не требующие дополнительного объема крови. Изучение их динамики в процессе лечения требует дальнейших исследований. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России.

Ключевые слова: дефицит железа, дети, ретикулоциты

Пшеничная К.И. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 32–35. DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-32-35

The measurement of reticulocyte hemoglobin content: a modern approach to the diagnosis of iron deficiency in children

K.I. Pshenichnaya, T.M. Ivashikina, M.V. Zaydina

Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg
Children's Consultative and Diagnostic Center, Saint Petersburg

Iron deficiency is one of the most widely spread types of microelementosis, especially in a growing organism. It is essential to diagnose iron deficiency at an early stage in order to start treatment timely. Diagnostics of iron deficiency can be complicated by concomitant diseases that distort biochemical parameters of iron metabolism, thus making them not informative enough. In this connection, hemoglobin count in reticulocytes (Ret-Hb) and delta-hemoglobin (Delta-He) may be useful indicators as they help to diagnose true iron deficiency at earliest stages and do not depend on concomitant conditions, which is described in reference sources. In this work, Ret-Hb and Delta-He were detected in the structure of blood hematology test performed on hematology analyzers Sysmex XT-4000 and Sysmex XN-9000 (Japan) in 24 children aged 1–18 with absolute iron deficiency; three of these children had absolute iron deficiency manifested as latent deficiency, and 19 children had hypochromic microcytic anemia of mild or medium severity. The parameter was below the normal limit (the average count was 24.2 ± 3.5 pg), while the normal limit is 28 pg, according to the reference sources. After two weeks of treatment, Ret-Hb increased up to 26.0 ± 2.9 pg. Delta-He, being initially as low as 2.9 ± 0.9 pg (with the lower threshold of 4.0 pg) rose up to 6.3 ± 3.4 pg. The results of our research have demonstrated that Ret-Hb and Delta-He may be regarded as informative, economical and affordable diagnostic parameters that do not require collection of additional blood samples. Their dynamics during treatment should be investigated further. This study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of Saint Petersburg State Pediatric Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation.

Key words: iron deficiency, children, reticulocytes

Pshenichnaya K.I., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 32–35.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-32-35

© 2020 by «D. Rogachev NMCRPHOI»

Received 02.12.2019

Accepted 28.01.2020

Correspondence:

Ksenia I. Pshenichnaya, Dr. med.
sci, Professor at the I.M. Vorontsov
Department of Pediatrics, Saint
Petersburg State Pediatric Medical
University of the Ministry of Healthcare of
the Russian Federation
Address: Russia, 194100,
Saint Petersburg, Litovskaya st., 2
E-mail: kpshenichnaya@yandex.ru

Неоспоримый прогресс, достигнутый в последние десятилетия в области профилактики и лечения железодефицитных состояний (ЖДС) у детей [1–3] диктует необходимость использования современных информативных, доступных и экономичных методов диагностики синдрома абсолютного дефицита железа. Целесообразность наиболее раннего выявления ЖДС в растущем организме обусловлена тем, что сопровождается разнообразными нарушениями не только со стороны крови, но и нервной системы, органов пищеварения, иммунитета, мышечной и костной тканей и других систем [4–6]. В структуре ЖДС до 70% составляет латентный дефицит железа (ЛДЖ), тогда как частота собственно железодефицитной анемии достигает около 30%. Высокая продолжительность жизни эритроцитов (120 дней) ограничивает диагностическую значимость эритроцитарных показателей в анализе крови на ранних стадиях дефицита железа [7, 8]. Ретикулоциты созревают и поступают в кровь быстрее, чем зрелые эритроциты, несут в себе гемоглобин, образовавшийся в течение последних 60 ч, и продолжают накапливать его в течение последующих 1–2 сут [9–12]. Поэтому именно ретикулоциты могут предоставить самую свежую информацию о наличии и доступности железа в эритроцитах. Определение концентрации гемоглобина в ретикулоцитах (Ret-Hb) позволяет получить представление об интенсивности синтеза и накопления гемоглобина в клетках эритроцита. Другим весьма ценным свойством данного показателя служит то, что он отражает состояние железистого обмена, в том числе в период переносимых пациентом сопутствующих заболеваний, когда существуют сложности в трактовке известных лабораторных показателей. Так, возникающее в этих случаях повышение концентрации ферритина сыворотки как белка острой фазы воспаления может маскировать его исходное снижение, указывающее на дефицит железа в организме [9]. Обнаруживаемая при этом сидеропения свидетельствует о функциональном дефиците железа и синдроме депонирования [1, 2], в то время как абсолютное ЖДС требует других методов диагностики. Одним из дополнительных лабораторных показателей, который может уточнить диагностику ЖДС в этих случаях, является Ret-Hb, зависящий в меньшей мере от протекающих в организме воспалительных, токсических, иммунопатологических и других процессов. По данным большинства источников, нижняя граница Ret-Hb должна быть не менее 28 пг, что указывает на достаточную доступность железа для синтеза гемоглобина. Современные автоматические гематологические анализаторы также

подсчитывают ретикулоцитарные индексы, анализ которых позволяет на ранних стадиях диагностировать ЖДС, а также оценивать эффективность ферротерапии. Таковым является дельта-гемоглобин (Delta-He), представляющий собой разность между значениями Ret-Hb и средним содержанием гемоглобина в эритроците. Средние значения показателя у детей различных возрастных групп, по данным Е.Л. Семикиной, составляют 3,42–4,16 пг, снижение Delta-He указывает на ЖДС [13].

Настоящая работа выполнена в целях отработки использования новых показателей, получаемых автоматическими гематологическими анализаторами для диагностики ЖДС у детей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России.

Объектом исследования были 24 пациента в возрасте от 1 года до 18 лет, находившиеся на обследовании в Консультативно-диагностическом центре для детей. В возрасте до 3 лет было 13 детей, от 3 до 5 лет – 3 ребенка и от 13 до 18 лет – 8 человек. Возрастное распределение детей с ЖДС соответствует данным литературы [1, 2]. Всем детям был выполнен клинический анализ крови до начала ферротерапии на гематологических анализаторах Sysmex XT-4000 и Sysmex XN-9000 (Япония) с обязательной оценкой мазка крови врачом-морфологом. Наличие ЖДС было подтверждено биохимическим анализом крови по снижению показателей ферритина сыворотки, сывороточного железа, коэффициента насыщения трансферрина, повышению общей железосвязывающей способности и показателя растворимых трансферриновых рецепторов (анализатор Cobas 6000 Roche, Швейцария). На момент первичного обследования признаков острой патологии, обострений хронических очагов инфекции не отмечалось.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По совокупности данных ЛДЖ имел место у 5 пациентов, анемия легкой степени тяжести – у 13 человек, средней степени тяжести – у 6 детей. Концентрация гемоглобина колебалась у обследованных детей в пределах 73–123 г/л, в среднем $98,4 \pm 0,4$ г/л. Количество эритроцитов в анализе крови колебалось в пределах $3,9\text{--}5,9 \times 10^{12}/\text{л}$, в

среднем $5,0 \pm 0,4 \times 10^{12}/л$, т. е. практически находилось в пределах нормы. У всех детей отмечен микроцитоз (средний объем эритроцитов $49,3\text{--}79$ фл, в среднем $64,9 \pm 5,7$ фл) и гипохромия (среднее содержание гемоглобина в эритроците $13,2\text{--}24,7$ пг, в среднем $20,5 \pm 2,5$ пг) эритроцитов. Количество ретикулоцитов, составляющее в норме, по данным литературы, $0,95 \pm 0,36\%$ [14] (по нормативам гематологического анализатора $0,2\text{--}2\%$), колебалось у наших пациентов в пределах $0,42\text{--}1,8\%$, но в среднем соответствовало референтным значениям – $0,99 \pm 0,27\%$, что указывало на регенераторный характер анемии. Показатель Ret-Hb, по данным большинства авторов, как и в нормативах гематологического анализатора ($28\text{--}39$ пг) должен составлять в норме не менее 28 пг при достаточной доступности железа в организме. У обследованных детей лишь в 2 случаях он был у нижней границы нормы – $30,2$ пг, у остальных – снижен, колебался в пределах $17,4\text{--}28,0$ пг и составлял в среднем $24,2 \pm 3,5$ пг. Показатель Delta-He, проанализированный у 7 детей до начала лечения, колебался в пределах $1\text{--}3,7$ пг, составлял в среднем $2,9 \pm 0,9$ пг.

В динамике через 2 нед от начала лечения препаратами железа (Мальтофер, Феррум Лек или Ферлатум) в дозе, соответствующей тяжести ЖДС, были проанализированы показатели клинического анализа крови у 24 детей. Общее состояние улучшилось у всех пациентов. У 7 из 24 детей содержание гемоглобина оставалось без динамики, у остальных 17 детей повысилось на 3–6 г/л. Количество ретикулоцитов увеличилось у всех детей, хотя отчетливого ретикулоцитарного криза отмечено не было, и лишь у 3 детей оно превысило 2%. Средний показатель ретикулоцитов тем не менее увеличился с 0,99 до 2,32%. Наиболее показательным в ранние сроки от начала лечения было повышение Ret-Hb. Динамика данного показателя была прослежена у 13 из 24 пациентов в связи с тем, что повторные клинические анализы крови в некоторых случаях выполнялись в других лабораториях – по месту жительства пациентов. Отмеченное поначалу снижение показателя Ret-Hb увеличилось в динамике у 12 из 13 детей в среднем с $24,2 \pm 3,5$ пг до $26,0 \pm 2,9$ пг, при этом у 5 из них показатель стал выше минимальной границы нормы. Показатель Delta-He выявил еще более отчетливую динамику, поднявшись в среднем с $2,9 \pm 0,9$ пг до $6,3 \pm 3,4$ пг.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследования Ret-Hb и Delta-He у детей соответствуют представлениям о данных

показателях как ранних маркерах дефицита железа в организме, имеющих высокую чувствительность – 93,3% и специфичность до 83,2% в диагностике железодефицитного эритропоэза [7]. Исследование представленных показателей в динамике лечения пациентов с ЖДС препаратами железа подтверждают их информативность, более отчетливую, чем концентрация гемоглобина в крови в ранние сроки терапии. Возможно, повышение показателя Ret-Hb можно было ожидать более выраженным при его определении в несколько более поздние сроки: через 16–18 дней от начала лечения, как это рекомендовано некоторыми авторами.

В структуре клинического анализа крови, выполненного на автоматическом гематологическом анализаторе, показатели Ret-Hb и Delta-He являются доступными и экономичными, а их интерпретация и использование требуют лишь необходимого уровня подготовки специалистов. Немногочисленность наблюдений не позволяет делать выводы об информативности показателей в динамике лечения в ближайшие и отдаленные сроки и требует дальнейших исследований. Однако создается впечатление об их более убедительной положительной динамике по сравнению с увеличением числа ретикулоцитов. Ориентироваться на повышение концентрации гемоглобина, что нередко имеет место в амбулаторной практике, в ранние сроки лечения, не рекомендуется, исходя из сроков жизни эритроцитов и времени насыщения новых зрелых клеток гемоглобином.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Снижение содержания Ret-Hb и Delta-He, определяемого в структуре клинического анализа крови, может быть использовано для ранней диагностики синдрома абсолютного дефицита железа при различной тяжести ЖДС у детей, в том числе для диагностики ЛДЖ в раннем возрасте. Исследование данных показателей в динамике может дать более точное представление об эффективности включения железа в гемоглобин по сравнению с другими показателями клинического анализа крови: уровнем гемоглобина, числом эритроцитов и ретикулоцитов, хотя сроки такого анализа по отношению к продолжительности начатого лечения требуют уточнения в динамике при наличии большего числа наблюдений. Определение показателей Ret-Hb и Delta-He может оказаться полезным при наличии у пациента с ЖДС хронических очагов инфекции и/или частых повторных заболеваний. Будучи выполненными в

структуре клинического анализа крови на гематологическом анализаторе, тесты не требуют дополнительного количества крови и экономических затрат.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Литература

1. Детская гематология. Клинические рекомендации. Под ред. Румянцев А.Г., Масчана А.А., Жуковской Е.В. М.: «ГЭОТАР-Медиа»; 2015. 656 с.
2. Демихов В.Г. Диагностика и лечение анемии в XXI веке. Сборник материалов II Всероссийской конференции. Рязань, 17–18 октября 2013 г.
3. Диагностика и лечение железодефицитной анемии у детей и подростков. Пособие для врачей. Под ред. Румянцева А.Г., Захаровой И.Н. М.; 2015. 76 с.
4. Жукова Л.Ю., Харчев А.В., Соколова Н.Е., Егоров А.С., Тарасенко А.Н. Железодефицитные анемии у подростков. Педиатр 2011; 2 (1): 25–31.
5. Козина Н.В., Соколова Н.Г. Адаптационный потенциал призывников срочной службы с дефицитом массы тела. Педиатр 2016; 7 (1): 173–7.
6. Пшеничная К.И., Жиленкова Ю.И. Дифференцированная оценка показателей обмена железа при гипохромных анемиях у детей. Педиатр 2016; (1): 27–31.
7. Барановская И.Б., Лузакова И.А., Напсо Л.И., Проскуряков М.Т., Ригер Н.А. Гемоглобин ретикулоцитов – дополнительный маркер диагностики ранней стадии железодефицитных состояний. [Электронный ресурс]. URL: http://www.rusnauka.com/8_NPE_2007/Medicine/20914.doc.htm (Дата обращения 04.01.2018).
8. Барановская И.Б., Онищук С.А. Гемоглобин ретикулоцитов в дифференциальной диагностике анемий. Вестник ОГУ 2008; (81): 129–30.
9. Павлов А.Д., Морщакова Е.Ф., Румянцев А.Г. Эритропоэз, эритропоэтин, железо. М.: «ГЭОТАР-Медиа»; 2011. 304 с.
10. Гемоглобинопатии и талассемические синдромы. Под ред. Румянцева А.Г., Токарева Ю.Н., Сметаниной Н.С. М.: Практическая медицина; 2015. 448 с.
11. Руководство по гематологии для практических врачей. Под ред. Воробьева А.И. Том 3. М.; 2005.
12. Румянцев А.Г., Морщакова Е.Ф., Павлов А.Д. Эритропоэтин в диагностике, профилактике и лечении анемий. М.; 2003. 448 с.
13. Семикина Е.Л. Новые технологии в автоматизированном анализе клеток крови: диагностическая значимость и возможность применения в клинической практике. Научно-образовательный форум «Новые инновационные и наукоемкие лабораторные технологии и тест-системы как вектор прогресса в клинической практике». Ростов-на-Дону, 7 сентября 2016 г. [Электронный ресурс]. URL: <http://ramld.ru/userfiles/file/RostovDon%202016/RostovDonSemykina.pdf>. (Дата обращения 27.07.2020).
14. Погорелов В.М., Козинец Г.И., Дягилева О.А., Проценко Д.Д. Цветной атлас клеток системы крови. М.: Практическая медицина, 2016. С. 16–38.

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 05.05.2020
Принята к печати 22.06.2020

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-36-40

Оценка информативности расчетных эритроцитарных индексов при первичной диагностике талассемий

У.А. Маркелова, С.А. Плясунова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Контактная информация:

Маркелова Умида Андреевна,
врач клинико-диагностической
лаборатории ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: markelova_ua@mail.ru

Ускорение дифференциальной диагностики микроцитарных гипохромных анемий до сих пор остается актуальной проблемой. С развитием лабораторной техники появляются новые возможности для дифференциации дефицита железа и гемоглобинопатий как основных причин гипохромных микроцитарных анемий. Настоящее исследование проведено в целях оценки информативности расчетных индексов эритроцитов M, Si, M-H и M-H-RDW при первичной диагностике талассемий. Настоящее исследование поддержано независимым этическим комитетом и одобрено ученым советом ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Обследованы 110 пациентов с микроцитарной гипохромной анемией. Материалом для исследований служила цельная венозная кровь с антикоагулянтом K₃ЭДТА. Исследование образцов крови проводилось методом проточной цитофлуориметрии на автоматическом гематологическом анализаторе Sysmex XT 4000i (Sysmex Corporation, Япония) в режиме CBC + DIFF + RET. Установлено, что с вероятностью 96,3% можно предположить наличие талассемии при первичной диагностике микроцитарной гипохромной анемии с использованием параметров автоматического гематологического анализатора при помощи расчетных индексов M, Si, M-H и M-H-RDW. Оценка их информативности в первичной диагностике талассемии показала высокую прогностическую ценность в случае одновременного изменения всех 4 индексов. Для правильной оценки и исключения ложноотрицательных результатов необходимы четкое соблюдение преаналитического этапа и наличие информации о проведенных пациенту трансфузиях эритроцитсодержащих сред.

Ключевые слова: микроцитарная гипохромная анемия, талассемия, скрининг талассемий

Маркелова У.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 36–40.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-36-40

Assessment of informative value of calculated red blood cell indices in the primary diagnosis of thalassemia

U.A. Markelova, S.A. Plyasunova

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

Acceleration of the differential diagnosis of microcytic hypochromic anemia is still an urgent problem. With the development of laboratory technology, new possibilities appear for differentiating iron deficiency and hemoglobinopathies as the main causes of hypochromic microcytic anemia. This study was conducted to assess the information content of the calculated indices of red blood cells M, Si, M-H and M-H-RDW in the primary diagnosis of thalassemia. This study is supported by the Independent Ethics Committee and approved by the Academic Council of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology. 110 patients with microcytic hypochromic anemia were examined. The material for research was whole venous blood with the anticoagulant K₃EDTA. Blood samples were studied by flow cytometry using an Sysmex XT 4000i (Sysmex Corporation, Япония) automated hematology analyzer in CBC + DIFF + RET mode. It was found that with a probability of 96.3%, it is possible to assume the presence of thalassemia in the primary diagnosis of microcytic hypochromic anemia using the parameters of an automatic hematology analyzer and calculated indices M, Si, M-H and M-H-RDW. Assessment of the information content of the calculated indices M, Si and M-H, M-H-RDW in the primary diagnosis of thalassemia showed their high predictive value in case of simultaneous changes in all 4 indices. For the correct assessment and exclusion of false negative results, a strict observance of the preanalytical stage and the availability of information on transfusions of erythrocyte-containing media carried out by the patient are necessary.

Key words: microcytic hypochromic anemia, thalassemia, thalassemia screening

Markelova U.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 36–40.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-36-40

Своевременная диагностика талассемий, а также их дифференциальная диагностика с другими микроцитарными гипохромными анемиями – актуальная проблема современного мира [1, 2]. Дети с тяжелыми формами β-талассемии зачастую здоровы при рождении, однако стано-

вятся анемичными в возрасте между 3 месяцами и 2 годами. В отсутствие своевременной диагностики и адекватного лечения талассемии, а также при неоправданном использовании препаратов железа с попыткой купировать анемию большинство пациентов умирают от нее или инфекций в первые годы жизни.

Поэтому своевременная постановка диагноза имеет большое практическое значение, поскольку определяет адекватную лечебную тактику [3].

В настоящее время алгоритм диагностики талассемии состоит из нескольких этапов, включающих физикальные и лабораторные методы исследования [4]. Однако зачастую пациентам назначается слишком большое количество исследований, что влечет за собой увеличение времени на постановку диагноза и, соответственно, увеличение финансовых затрат.

В связи с этим в последнее время ряд авторов [5, 6] акцентируют свое внимание на информативности эритроцитарных индексов, рассчитываемых при помощи развернутого клинического анализа крови, применение которых позволит выявить вероятность талассемии уже на первом этапе лабораторной диагностики и проводить скрининг с выявлением групп пациентов с высокой вероятностью наличия данного заболевания. А это в свою очередь позволит избежать назначения ненужных исследований и сократит время диагностики талассемии.

По мнению Ю.И. Жиленковой [5], наиболее эффективными для диагностики и скрининга гемоглинопатий оказались индексы М (Mentzer) и Si (Sirdah). По результатам проведенного исследования, расчетные индексы при пороговых значениях $M < 11,5$ и $Si < 25$ обладали наибольшей диагностической ценностью в отношении выявления пациентов с гемоглинопатиями, сопровождающимися минимальными клинико-гематологическими проявлениями заболевания.

В другом исследовании, проведенном Е. Urrechaga [6], было показано, что наибольшей чувствительностью и специфичностью при дифференциальной диагностике микроцитарных анемий и проведении скрининга β -талассемии обладали индексы М, М-Н и М-Н-RDW. В случае индексов М-Н и М-Н-RDW пороговые значения, свидетельствующие о высоком риске талассемии, составили $> 11,5$ и $> -5,1$ соответственно [6].

Однако для расчета индексов М-Н и М-Н-RDW необходим гематологический анализатор, способный определять процент микроцитарных (MicroR) и гипохромных (HypoHe) эритроцитов. В настоящее время такими анализаторами являются Sysmex XT-4000i, XE 5000 (необходимые параметры определяются в качестве научных), анализаторы серии XN (необходимые параметры определяются в качестве рутинных), а также анализаторы Advia 2120i (Siemens, Германия).

В проведенном нами исследовании диагностика талассемии с помощью расчетных эритроцитарных индексов включала в себя алгоритм, предложенный Ю.И. Жиленковой [5], дополненный

сочетанием индексов М-Н и М-Н-RDW, предложенным Е. Urrechaga [6].

Цель исследования: оценить информативность расчетных индексов М, Si, М-Н и М-Н-RDW при первичной диагностике талассемий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование поддержано независимым этическим комитетом и одобрено ученым советом ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В ретроспективное исследование были включены 110 пациентов (60 мальчиков и 50 девочек) различных возрастных групп (от 4 месяцев до 27 лет, медиана (Me) – 3 года), находившихся на обследовании и/или лечении в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России в период с июня 2018 г. по июнь 2019 г. Критерием включения пациентов в данную работу являлось наличие микроцитарной гипохромной анемии при рутинном исследовании общего анализа крови.

Пациентам проводились расширенный клинический анализ крови, определение числа ретикулоцитов в крови, а также изучались результаты биохимических исследований и электрофореза фракций гемоглобина (при наличии) и данные их анамнеза, содержащиеся в медицинской документации. В качестве клинического материала для проведения гематологических исследований была использована цельная венозная кровь с антикоагулянтom K_2 ЭДТА. Исследование образцов крови проводилось методом проточной цитофлуориметрии на автоматическом гематологическом анализаторе Sysmex XT 4000i (Sysmex Corporation, Япония) в режиме CBC + DIFF + RET.

Используемые гематологические показатели представлены в *таблице 1*. Эритроцитарные индексы рассчитывали по формулам, приведенным в *таблице 2*.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программного обеспечения Microsoft Excel, а также с использованием статистической программы MedCalc v14 8.1. Сравнение рядов выполняли с использованием непараметрических методов (U-тест Манна-Уитни). Критерием статистической достоверности считали $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На основе результатов сочетания расчетных индексов и их значений все пациенты с микроцитарной гипохромной анемией были разделены на 4 группы (*рисунок 1*).

В группе 1, где обе пары индексов: М и Si, М-Н и М-Н-RDW показали высокий риск талассемии, у 26 из 27 пациентов была выявлена

Таблица 1

Используемые гематологические показатели, определяемые на гематологическом автоматическом анализаторе Sysmex XT 4000i

Table 1

Used hematological parameters, determined on a hematological automatic analyzer Sysmex XT 4000i

Показатель Indices	Расшифровка Description	Единицы измерения Units of measurement
RBC	Общее число эритроцитов Red blood cells	$\times 10^{12}/л$ $\times 10^{12}/l$
HGB	Концентрация гемоглобина Hemoglobin	г/л g/l
HCT	Значение гематокрита Hematocrit	л/л l/l
MCV	Средний объем эритроцитов в общем объеме пробы Mean corpuscular volume	фл fl
RDW-SD	Расчетная ширина распределения эритроцитов, стандартное отклонение Red cell distribution width, standard deviation	фл fl
RDW-CV	Расчетная ширина распределения эритроцитов, коэффициент отклонения Red cell distribution width, coefficient of variation	%
MCH	Средний объем гемоглобина в эритроцитах Mean corpuscular hemoglobin	пг pg
MCHC	Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах Mean corpuscular hemoglobin concentration	г/дл g/dl
RET	Количество ретикулоцитов Reticulocytes	% и $\times 10^{12}/л$ % and $\times 10^{12}/l$
MicroR	Доля микроцитарных эритроцитов Microcytic RBCs	%
НуроHe	Доля гипохромных эритроцитов Hypochromic RBCs	%

Таблица 2

Эритроцитарные индексы, используемые для диагностики талассемий

Table 2

Erythrocyte indices used to diagnose thalassemia

Индекс Indices	Формула Mathematical formulas
M	MCV/RBC
Si	$MCV - RBC - 3 \times Hb$
M-H	% MicroR – % Нуро-He
M-H-RDW	% MicroR – % Нуро-He – RDW-CV

Примечание. Hb – гемоглобин.

Note. Hb – hemoglobin.

талассемия (малая форма β -талассемии), у 1 – железодефицитная анемия. Чувствительность объединения 2 пар эритроцитарных индексов составила 83,9%, специфичность – 97,5%.

В группе 2, где только 1 пара индексов: M и Si показала высокий риск талассемии, из 29 у 23 пациентов была обнаружена талассемия (у 17 человек малая форма β -талассемии, у 6 – α -талассемия), у 5 – железодефицитная анемия, у 1 больного диагноз неизвестен по причине недостаточного количества данных. Чувствительность – 79,3%, специфичность – 88%.

В группе 3, где только 1 пара индексов: M-H и M-H-RDW показала высокий риск талассемии, из 10 пациентов у 1 выявлена малая форма β -талассемии, у 2 – железодефицитная анемия, у 7 больных наблюдались следующие заболевания: наследственный сфероцитоз, тромбоцитопения неуточненной этиологии, синдром Нунан, первичное иммунодефицитное состояние. Чувствительность – 16%, специфичность – 83,3%.

В группе 4, несмотря на низкий риск талассемии по результатам 2 пар расчетных индексов: M и Si, M-H и M-H-RDW, из 44 пациентов у 5 все же была выявлена талассемия (2 ребенка с α -талассемией, 1 – с малой формой β -талассемии, 2 – с большой формой β -талассемии), у 11 – железодефицитная анемия, у остальных пациентов наблюдались анемии другого генеза (рисунки 1).

Следовательно, изолированное одновременное снижение расчетных индексов M и Si позволило выявить талассемию в 79,3% случаев, а изолированное одновременное повышение индексов M-H и M-H-RDW – в 10% случаев. Однако суммарное изменение 2 пар индексов в сторону высокого риска талассемии позволило выявить ее в 96,3% случаев.

Далее в результате сравнительного анализа гематологических показателей между детьми с талассемией из групп 1 и 4 было выявлено, что у пациентов с данным заболеванием из группы 4, где результаты расчетных индексов M, Si и M-H, M-H-RDW не были характерны для талассемии, наблюдалось статистически значимое повышение показателей MCV, RDW-SD, MCH, M и Si и снижение показателей RBC, HGB, MicroR, НуроHe, M-H, M-H-RDW (таблица 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Появление ложноотрицательного результата талассемии у детей из группы 4 можно объяснить либо более легким течением заболевания, при котором наблюдаются более высокие объемы эритроцитов и, как следствие, более высокое содержание в них гемоглобина, либо возможным нарушением преаналитического этапа, когда у пациента забор крови был осуществлен после проведенной трансфузии донорских эритроцитов. Тем самым наличие в крови пациента донорских эритроцитов с более высокими объемами и содержанием в них гемоглобина привело к увеличению показателя их анизоцитоза, снижению доли микроцитарных и гипохромных эритроцитов и, как следствие, к нехарактерным для талассемии результатам расчетных индексов M, Si, M-H и M-H-RDW.

Однако стоит принять во внимание, что при наличии большой формы β -талассемии больным необходимы регулярные заместительные трансфузии

Рисунок 1

Алгоритм диагностики талассемии при помощи расчетных индексов M и Si, M-H и M-H-RDW (диагноз «талассемия» включает в себя а- и b-талассемию)

Figure 1

An algorithm for diagnosing thalassemia using the calculated indices M and Si, M-H and M-H-RDW (diagnosis of thalassemia includes a- and b-thalassemia)

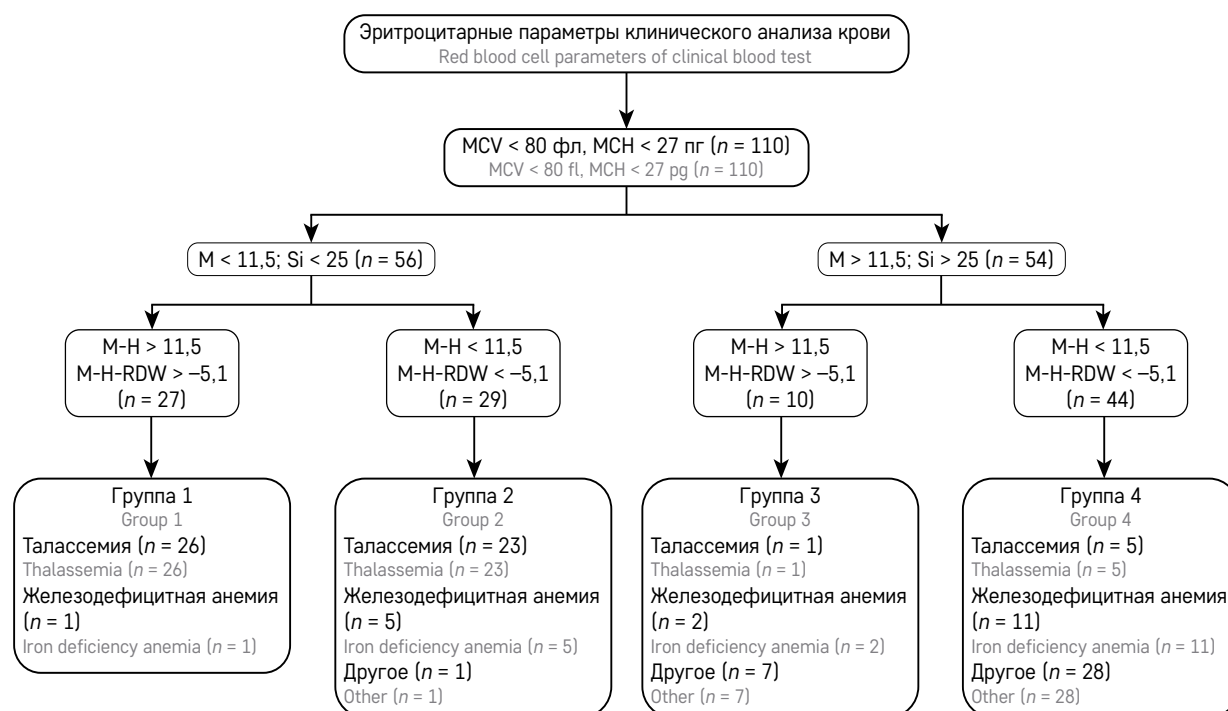


Таблица 3

Суммарный сравнительный анализ гематологических показателей между детьми с талассемией из групп 1 и 4; Me (P25–P75)

Table 3

The total comparative analysis of hematological parameters between children with thalassemia from groups 1 and 4; Me (P25–P75)

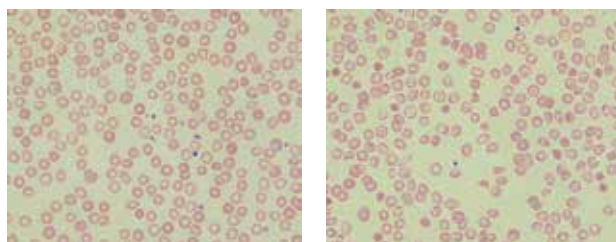
Показатель Indices	Талассемия Thalassemia		Уровень достоверности, p p-value
	группа 1 (n = 27) group 1 (n = 27)	группа 4 (n = 44) group 4 (n = 44)	
RBC, $\times 10^{12}/л$ RBC, $\times 10^{12}/l$	5,7 (5,4–6,0)	4,0 (3,2–4,5)	< 0,001
HGB, г/л HGB, g/l	107 (101–108)	92 (78–103)	< 0,05
HCT, л/л HCT, l/l	31,4 (29,7–32,7)	26,2 (23,1–30,7)	Статистически незначимо Not significant
MCV, фл MCV, fl	54,2 (52,5–56,3)	70,1 (66,3–72,6)	< 0,001
RDW-SD, фл RDW-SD, fl	33,4 (31,7–35,0)	37,6 (35–39,7)	< 0,05
RDW-CV, %	18,2 (17,5–18,7)	16,0 (14,0–21,4)	Статистически незначимо Not significant
MCH, пг MCH, pg	18,4 (18–18,9)	23,8 (22,7–24,5)	< 0,001
MCHC, г/дл MCHC, g/dl	338 (332–342)	340 (332–344)	Статистически незначимо Not significant
MicroR, %	64,6 (56,3–70,7)	18,8 (14,5–25,1)	< 0,001
НуроHe, %	42,0 (33,7–47,8)	10,1 (6,6–21,5)	< 0,01
RET, %	1,0 (0,8–1,5)	1,5 (1,0–1,9)	Статистически незначимо Not significant
M	9,6 (8,7–10,4)	15,9 (15,2–22,5)	< 0,001
Si	17,5 (14,6–20,2)	35,3 (31,0–43,9)	< 0,001
M-H	21,3 (18,6–25,4)	6,2 (0,6–10,4)	< 0,001
M-H-RDW	3,0 (0,5–7,6)	-7,7 (-20,8–(-4,8))	< 0,001

Рисунок 2

Морфология эритроцитов у пациентов с талассемией из группы 1

Figure 2

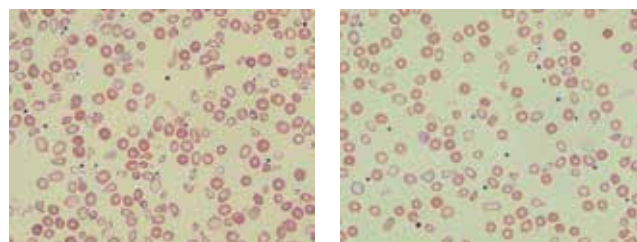
Morphology of red blood cells in patients with thalassemia from group 1

**Рисунок 3**

Морфология эритроцитов у пациентов с талассемией из группы 4

Figure 3

Morphology of red blood cells in patients with thalassemia from group 4



донорских эритроцитов, при которых последние не успевают полностью элиминироваться из кровотока, и, следовательно, не представляется возможным изучение только собственных эритроцитов пациента. Таким образом, появление ложноотрицательных результатов талассемии при расчете эритроцитарных индексов M, Si, M-H и M-H-RDW во время скрининга данного заболевания можно исключить забором крови для исследования перед проведением следующей трансфузии донорских эритроцитов и указанием даты последней проведенной трансфузии в направлении.

При сравнении морфологии эритроцитов в мазках периферической крови между пациентами с талассемией в группах 1 и 4 было выявлено, что у детей из группы 4 наблюдалось наличие популяции предположительно донорских эритроцитов, поскольку они обладали большими объемами и были более гиперхромны, а также наблюдалось меньшее количество мишеневидных эритроцитов, чем у детей из группы 1 (рисунки 2 и 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка информативности расчетных индексов M, Si и M-H, M-H-RDW у детей с микроцитарной гипохромной анемией показала их высокую прогно-

стическую ценность. Одновременное изменение 2 пар индексов в сторону высокого риска талассемии позволяет выявить ее в 96,3% случаев. Для правильной оценки и исключения ложноотрицательных результатов необходимы строгое соблюдение преаналитического этапа и наличие информации о проведенных пациенту трансфузиях эритроцитсодержащих сред.

Применение в клинической практике современных приборов, таких как Sysmex XT-4000i, XE 5000, анализаторы серии XN (Sysmex Corporation, Япония), Siemens Advia 2120i (Siemens, Германия) с большим спектром измеряемых параметров, и расчет эритроцитарных индексов M, Si и M-H, M-H-RDW позволят значительно сократить время на постановку верного диагноза, поскольку помогут выявить риск наличия талассемии уже по результатам рутинного клинического анализа крови.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Markelova U.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9802-2483>

Plyasunova S.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4503-0735>

Литература

1. Лохматова М.Е., Сметанина Н.С., Финогонова Н.А. Эпидемиология гемоглобинопатий в Москве. Педиатрия 2008; 87 (4): 46–50.
2. Токарев Ю.Н. Гемоглобинопатии: географическое распространение, этиопатогенез, диагностика, принципы лечения и профилактика. Терапевтический архив 1998; 60: 62–6.
3. Лунова А.Г., Федорова Т.Т., Олейник Е.А., Погорелая Л.И., Кривенко Е.А., Кос-тина М.Ю. и др. Талассемии (обзор). Огляди 2013; 22 (3): 460–8.
4. Федорова Т.Т., Погорелая Л.И., Лунова А.Г. Алгоритм клинико-лабораторной диагностики талассемий. Лабораторная диагностика. Восточная Европа 2014; 10 (2): 134–9.
5. Жиленкова Ю.И. Особенности лабораторной диагностики различных форм гемоглобинопатий. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2017.
6. Urrechaga E., Borque L., Escanero J.F. The role of automated measurement of rbc subpopulations in differential diagnosis of microcytic anemia and β -thalassemia screening. Am J Clin Pathol 2011 Mar;135(3):374–9. DOI: 10.1309/AJCP-JRH1I0XTNFGA

Roche

Очарование кровью

«Кровь, надо знать, совсем особый сок», – писал немецкий поэт и ученый Иоганн Вольфганг Гете.

Действительно, на протяжении веков кровь интриговала и очаровывала ученых. Их пытливым умом раскрывались многие из ее секретов, углублялось понимание ее структур и функций.

Сегодня гематология – сложная и многогранная дисциплина, которая занимается решением самых разнообразных проблем: от рака крови и нарушений ее свертываемости, таких как гемофилия, до нарушений системы комплемента, таких как пароксизмальная ночная гемоглобинурия.

Несмотря на то, что заболевания крови разнообразны по своей природе, их объединяет то, что они оказывают сильное влияние на здоровье пациента и качество его жизни. Только онкогематологические заболевания (гемобласты), такие как миелома, лейкозы и лимфомы, являются четвертой по частоте причиной онкологической смертности во всем мире.

Помогать людям с гематологическими заболеваниями: это в нашей крови

На протяжении более 20 лет компания «Рош» стремится предложить специалистам здравоохранения новые варианты лечения заболеваний крови, для которых существующие возможности терапии ограничены.

Среди наших разработок, использующихся в широкой клинической практике, – моноклональные антитела к белку CD20, который присутствует на поверхности злокачественных клеток при наиболее распространенных типах лимфом и лейкозов. Препараты связываются с белком CD20, блокируют получение опухолевыми клетками сигнала для роста и помечают их для уничтожения иммунной системой.

Сегодня мы продолжаем инвестировать в создание инновационных препаратов для лечения пациентов с заболеваниями

крови и изучаем новые молекулярные мишени, комбинированные режимы для достижения различных клинических конечных точек и в различных линиях терапии. Например, учеными компании «Рош» разработан препарат для применения при диффузной В-крупноклеточной неходжкинской лимфоме у пациентов, получивших как минимум одну линию предшествующей терапии. В настоящее время заявка на регистрацию этого препарата находится на рассмотрении в Министерстве здравоохранения Российской Федерации. Также на последних этапах разработки находятся биспецифические антитела для терапии пациентов с рецидивирующими и рефрактерными формами В-клеточных лимфом.

Многолетний опыт и глубокие знания позволили компании предложить принципиально новую технологию в лечении одного из самых частых нарушений свертываемости крови – гемофилии А. Многие российские пациенты и клиницисты уже оценили эффективность и безопасность препарата моноклональных антител в профилактике кровотечений, в том числе при ингибиторной форме заболевания, его пролонгированное действие и подкожный способ введения. А с 2021 г. препарат будет доступен в рамках программы «14 высокотехнологичных нозологий».

Сегодня компания «Рош» активно работает, чтобы предложить пациентам более совершенные методы лечения нарушений свертываемости крови, в частности наши ученые ведут разработку генной терапии гемофилии А.

Наша приверженность борьбе с гематологическими заболеваниями выходит за рамки разработки инновационных методов лечения. Мы работаем в тесном партнерстве с врачебным сообществом, общественными организациями, органами государственной власти, чтобы пациенты в России могли получить доступ к инновационным технологиям максимально быстро и эффективно.

О компании «Рош»

«Рош» (Базель, Швейцария) – глобальная инновационная компания в области фармацевтики и диагностики, которая использует передовую науку, чтобы улучшить жизни людей. В 2019 г. инвестиции компании в исследования и разработки составили 11,7 млрд швейцарских франков. Компания «Рош» является одним из крупнейших разработчиков и производителей биотехнологических лекарственных препаратов для лечения онкологических, аутоиммунных,

инфекционных и неврологических заболеваний. Компания также является одним из лидеров в области диагностики *in vitro* и гистологической диагностики онкологических заболеваний, а также пионером в области самоконтроля сахарного диабета. Объединение фармацевтического и диагностического подразделений позволяет компании «Рош» быть одним из лидеров в области персонализированной медицины. АО «Рош-Москва» представляет в России фармацевтическое подраз-

деление компании. Работая со всеми заинтересованными сторонами, мы стремимся улучшить доступ российских пациентов к инновационным технологиям в лечении заболеваний. В перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов входят 27 продуктов компании. «Рош» вносит долгосрочный вклад в развитие медицины, науки, общественного здравоохранения и фармацевтической промышленности в России. Подробнее на www.roche.ru.

www.roche.ru



АО «Рош-Москва». Официальный дистрибьютор «Ф.Хоффманн-Ля Рош Лтд.» (Швейцария)
107045, Россия, г. Москва Трубная площадь, дом 2, помещение I, этаж 1, комната 42, МФК «Галерея Неглинная»
Тел.: +7 (495) 229-29-99
www.roche.ru

реклама. 6+

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 26.05.2020
Принята к печати 22.06.2020

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-42-49

Организационные аспекты терапии острой массивной кровопотери при хирургической коррекции онкологических заболеваний у детей

Н.П. Леонов¹, В.В. Щукин¹, Г.А. Новичкова¹, Е.А. Спиридонова^{1, 2}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва

Контактная информация:

Леонов Николай Петрович,
канд. мед. наук, врач-анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации с операционным блоком ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: NikoLeonov@ya.ru

Организация терапии острой массивной кровопотери (ОМК) у детей во время хирургических операций требует междисциплинарного подхода в каждом лечебном учреждении в зависимости от его профиля. В НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева разработан и внедрен протокол терапии ОМК, применяемый у детей во время хирургической коррекции онкологических заболеваний. Систематическое обучение персонала и развитие командных навыков в симуляционном классе Центра стало основой его реализации. Кроме этого, важными компонентами протокола являются раннее начало терапии (инициация при кровопотере более 1 мл/кг/мин) и действия, направленные на снижение времени критической гипотензии. Терапия приобретенной коагулопатии и профилактика синдрома массивных трансфузий проводятся только после нормализации системной гемодинамики. Мы представляем свой опыт применения данного протокола у ребенка 3 лет с ОМК более 400% объема циркулирующей крови при хирургическом удалении хориоидкарциномы. Представленный клинический случай демонстрирует не только драматизм течения заболевания, но и хорошие результаты слаженной, прекрасно организованной и координированной совместной работы всех специалистов Центра. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Родители дали согласие на использование информации (результатов обследования, лечения и наблюдения), в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.
Ключевые слова: острая массивная кровопотеря, протокол, дети, онкологические заболевания, клинический случай

Леонов Н.П. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 42–49.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-42-49

Organizational aspects of acute massive blood loss therapy in pediatric surgical oncology

N.P. Leonov¹, V.V. Shchukin¹, G.A. Novichkova¹, E.A. Spiridonova^{1, 2}

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

²A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

The organization of acute massive blood loss therapy in pediatric surgical requires an interdisciplinary approach in each medical center, depending on their profile. In our center, a protocol of acute massive blood loss therapy in pediatric surgical oncology has been developed and implemented. Systematic training of personnel and the development of team skills in the simulation class of the center became the basis for its implementation. In addition, the earlier initiation of therapy (with blood loss of more than 1 ml/kg/min) and actions aimed at reducing the time of critical hypotension became important conditions of the protocol. The acquired coagulopathy therapy and the prevention of massive transfusion syndrome are carried out only after the normalization of systemic hemodynamics. We present our experience of using this protocol in a 3-year-old child with acute massive blood loss more than 400% of the circulating blood volume during surgical removal of choriocarcinoma. The presented clinical case demonstrates not only the dramatic nature of the course of the disease, but also the good results of the organization and coordination of the joint work of all the center's specialists. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology. Parents gave their consent to use information about the child, including fotos, in the article.

Key words: acute massive blood loss, protocol, children, cancer, clinical case

Leonov N.P., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 42–49.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-42-49

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPOH»
Received 26.05.2020
Accepted 22.06.2020

Correspondence:

Nikolai P. Leonov, MD, Anesthesiologist and Intensive care doctor, Department of Anesthesiology and Resuscitation with Surgical Unit, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation
Address: Russia, 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
E-mail: NikoLeonov@ya.ru

Неконтролируемое и массивное кровотечение у детей с онкологическими заболеваниями во время хирургических операций является одним из критических инцидентов, который представлен сочетанием таких патофизиологических процессов, как геморрагический шок, коагулопатия и синдром

массивных трансфузий, что требует междисциплинарного подхода [1–4]. Развитие и неадекватная терапия данных нарушений ведут к увеличению тяжести полиорганной недостаточности, крайним проявлением которой является высокий риск летального исхода [5]. В настоящее время в педиатрической

практике критериями острой массивной кровопотери (ОМК) являются потеря крови, превышающая 1 объем циркулирующей крови (ОЦК) в течение 24 ч, либо потеря 50% ОЦК в течение 3-часового периода, либо необходимость в трансфузии 10% ОЦК каждые 10 мин при активном кровотечении [6]. Данное определение в большей степени может применяться для ретроспективной оценки тяжести ОМК. Для правильной оценки ситуации и быстрого принятия решения об инициации протокола терапии ОМК больше подходит критерий, определяющий ОМК во время хирургического вмешательства как темп кровопотери более 1 мл/кг/мин [7]. Важными условиями для получения хорошего клинического результата являются успешное хирургическое устранение причины кровотечения и выполнение комплекса мероприятий по поддержанию гемодинамики, нормотермии, профилактике тканевой гипоксии и коррекции гемостатических нарушений [8]. Таким образом, для успешной терапии ОМК необходимо тесное сотрудничество анестезиолого-реанимационной команды со специалистами хирургического профиля, трансфузиологами, гемостазиологами и гематологами.

Согласно утвержденным в 2018 г. клиническим рекомендациям Общероссийской общественной организации «Федерация анестезиологов и реаниматологов», в каждом лечебном учреждении должны быть разработаны и внедрены в клиническую практику протоколы ОМК на основе стандартов с доказательной базой и обязательным контролем качества выполнения данных протоколов [9].

В ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России на основе российских и зарубежных рекомендаций разработан и внедрен в клиническую практику протокол ведения ОМК. Представление данного протокола на примере случая массивной кровопотери у ребенка при хирургической коррекции онкологического заболевания является целью данной публикации.

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

Протокол ведения пациентов с острой массивной кровопотерей

Организационная схема выполнения протокола ведения массивной кровопотери приведена на рисунке.

При возникновении во время хирургического вмешательства кровопотери более 1 мл/кг/мин иницируется протокол ведения ОМК, вызывается руководитель анестезиологического или хирургического подразделения, который исполняет роль лидера группы, ответственного за оценку ситуации, принятие

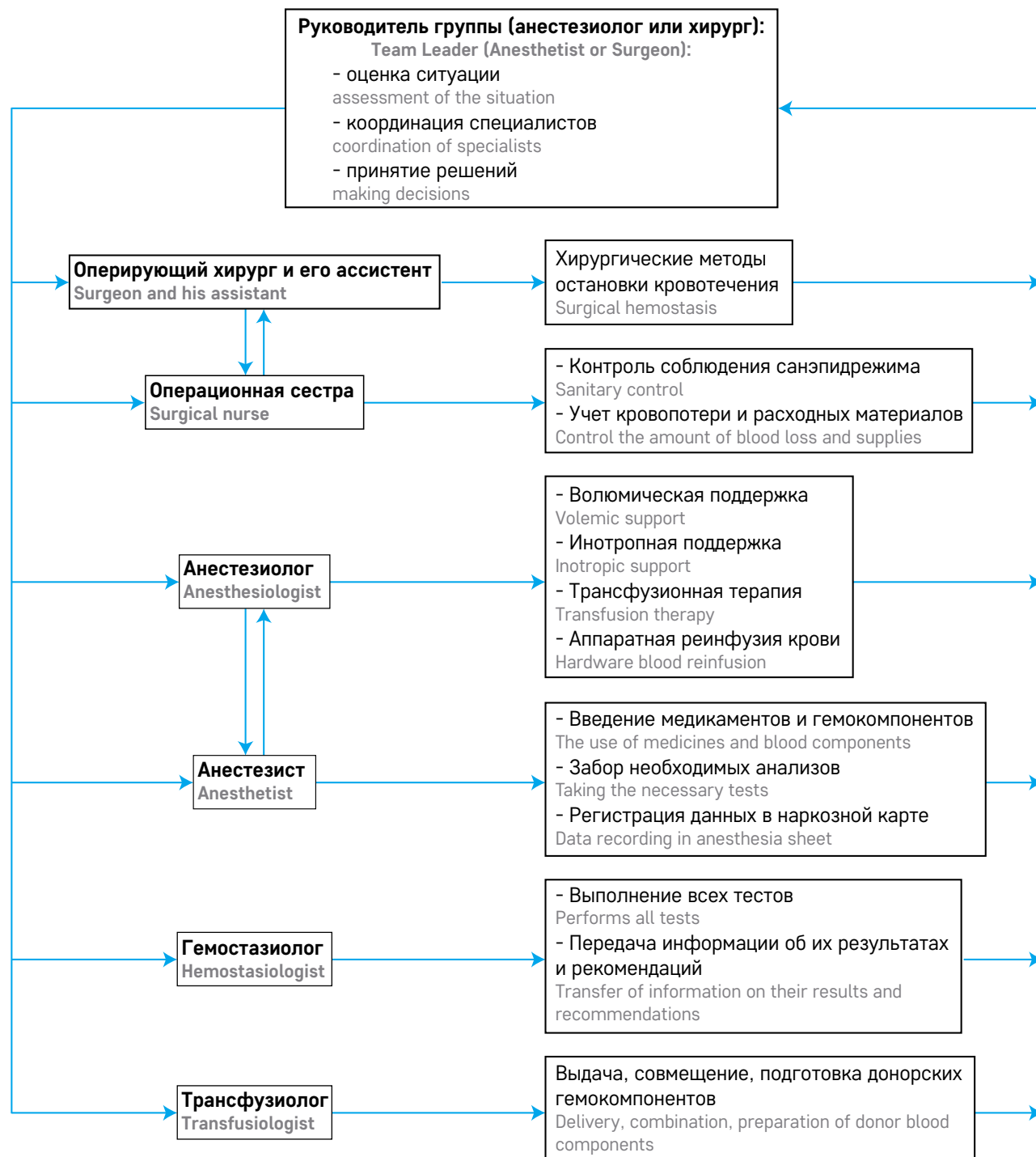
решений и координацию действий специалистов. Оперирующий хирург и его ассистент выполняют хирургическую остановку кровотечения, а операционная медицинская сестра обеспечивает контроль соблюдения санитарно-эпидемиологического режима, учет кровопотери и расходных материалов. Анестезиолог, продолжая осуществлять анестезиологическое пособие, проводит контроль и терапию гемодинамических нарушений посредством волюмической и инотропной поддержки, а также трансфузию компонентов донорской крови. Основной задачей анестезиолога является минимизация времени критической гипотензии, профилактика гипоксемии. Вторичная задача – провести комплекс мер, направленных на профилактику гипотермии, электролитных и метаболических нарушений. Основные целевые параметры: поддержание температуры тела более 35°C, pH > 7,2, избыток основания (BE) > -6, лактат < 4 ммоль/л. Протоколом Центра предусмотрено заблаговременное обеспечение венозного доступа у всех пациентов. В случае отсутствия надлежащего венозного доступа может быть использован внутрикостный или хирургический доступ. Препаратом первой линии инотропной поддержки является норадреналин. Целевые значения систолического артериального давления (АД) для новорожденных > 60 мм рт. ст., для детей до 1 года жизни > 70 мм рт. ст., для детей от 1 года до 10 лет > 70 мм рт. ст. + 2 × возраст в годах, для детей старше 10 лет > 90 мм рт. ст. [10]. Волюмическая поддержка осуществляется 4% гелофузином (B.BRAUN MELSUNGEN, AG, Германия) при начальном этапе реанимации для восполнения до 30% объема кровопотери, затем сбалансированными солевыми растворами. Целевым ориентиром достаточности волюмической поддержки является поддержание центрального венозного давления более 5 мм рт. ст. Анестезисты выполняют назначения анестезиолога, подготавливают и осуществляют введение медикаментов и компонентов крови, их согревание, осуществляют забор необходимых анализов (экспресс-анализ крови – гемоглобин, гематокрит, число тромбоцитов; коагулограмма – концентрация фибриногена, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), международное нормализованное отношение (МНО), тромбиновое время (ТВ); анализ газового и электролитного составов крови), регистрируют данные в наркозной карте. При инициации протокола ведения ОМК экспресс-анализы крови, газового и электролитного составов выполняются сразу и далее каждый час до купирования кровотечения. Забор крови для получения данных коагулограммы проводится после нормализации гемодинамики и в дальнейшем для контроля после выполнения намеченной программы гемо-

Рисунок

Организационная схема выполнения протокола ведения массивной кровопотери

Figure

Organizational flow chart of the massive blood loss management protocol



статической терапии. Образцы крови между лабораторией и операционной передаются посредством пневмопочты. Гемостазиолог в лаборатории выполняет все необходимые тесты и обеспечивает оперативную передачу их результатов и рекомендаций руководителю группы. При необходимости гемостазиолог получает дополнительную информацию из электронной истории болезни или от руководителя группы. Компоненты крови из отделения трансфузи-

ологии в операционную доставляются сотрудниками отделения трансфузиологии. Трансфузиолог по согласованию с руководителем группы осуществляет подготовку, совмещение и выдачу донорских гемокомпонентов. Злокачественные новообразования не являются противопоказанием для применения аппаратной реинфузии крови при условии использования лейкоцитарных фильтров или облучения аутокрови. Решение о реинфузии аутокрови принимает транс-

фузиолог. Кроме этого, он осуществляет назначение гемокомпонентов, а также наблюдение, профилактику, регистрацию и терапию гемотрансфузионных реакций и осложнений. Трансфузия эритроцитарной взвеси и свежезамороженной плазмы (СЗП) на начальном этапе осуществляется в соотношении 1:1. В дальнейшем целевой уровень гемоглобина поддерживается более 100 г/л, а гематокрита – более 30%. Дополнительная трансфузия СЗП, криопреципитата, тромбоконцентрата и антифибринолитиков осуществляется при сохранении кровотечения, в том числе микрососудистого, исходя из данных лабораторных анализов. СЗП назначается 15 мл/кг при удлинении АЧТВ более 1,5 раза от нормы. Криопреципитат – 0,5 дозы/кг при снижении фибриногена менее 1,5 г/л. Число тромбоцитов поддерживается выше $50 \times 10^9/\text{л}$. Назначение антифибринолитиков осуществляется в ранние сроки ОМК, после стабилизации гемодинамики. Препаратом выбора является транексамовая кислота, которая назначается в дозе 15 мг/кг в виде болюса, затем в виде постоянной инфузии 2 мг/кг/ч до полной остановки кровотечения. Также осуществляется контроль ионизированного кальция в плазме крови, его концентрация поддерживается более 1 ммоль/л. Обязательным условием выполнения протокола является динамический лабораторный контроль, который выполняется для оценки эффективности проводимой терапии. При полной остановке кровотечения объем проводимой гемостатической терапии ограничивается до достижения физиологически приемлемых показателей лабораторных анализов. Решение о дальнейшем объеме операции принимается коллегиально.

В протоколе нашего Центра изложены все основные клинические, лабораторные и логистические действия, которые необходимы для успешной терапии ОМК. Важным аспектом внедрения данного протокола является систематическое освоение его медицинским персоналом в симуляционном классе НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Родители дали согласие на использование информации (результатов обследования, лечения и наблюдения), в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ребенок, 3 года, масса тела 15 кг, поступил в хирургическое отделение НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева с жалобами на шаткость походки, косоглазие. Симптомы появились в течение года до поступления. По данным компьютерной томографии у ребенка имелось образование правого полушария головного мозга. После выполнения оперативной биопсии гистологическое исследование выявило

хориоидкарциному, WNO grade III. По данным магнитно-резонансной томографии были определены узловые метастатические поражения шейного, грудного, поясничного отделов спинного мозга. Результаты проведенной каротидной ангиографии бассейнов внутренних сонных артерий и ангиографии бассейна основной артерии подтвердили наличие обширного опухолевого образования без четких контуров, которое кровоснабжалось мелкими ветвями левой средней и заднемозговыми артериями. Васкуляризация опухоли была слабо выражена. Признаков нарушения венозного оттока не определялось. При молекулярно-генетическом исследовании (секвенирование по Сэнгеру) герминальная мутация в гене *TP53* не обнаружена. Ребенку установлен диагноз: хориоидкарцинома правого бокового желудочка и теменно-затылочной области справа с множественным метастатическим поражением мозжечка, левого полушария, спинного мозга; R+ M3-стадия.

За 3 сут до операции через правую подключичную вену в верхнюю полую вену под ультразвуковой навигацией и рентгенологическим контролем ребенку установили двухпросветный катетер Certofix 4Fr. Определили степень тяжести операции – V (операция чрезвычайной степени риска – хирургическое вмешательство на жизненно важных органах и системах у больных с тяжелыми нарушениями витальных функций) и степень тяжести по ASA – V (высокая вероятность гибели пациента в течение 24 ч после операции или без нее).

Стандартное обследование перед операцией не выявило никаких отклонений. Результаты функционального исследования сердца, почек, печени и щитовидной железы были в пределах нормы. Группа крови ребенка определена как B(III)Rh+ C(+)c(+)E(-)e(+). Предоперационный гемоглобин, гематокрит, общее количество лейкоцитов, количество тромбоцитов, сывороточные натрий, калий и альбумин составляли 120 г/л, 35,7%, $7,16 \times 10^9/\text{л}$, $426 \times 10^9/\text{л}$, 139 ммоль/л, 4,4 ммоль/л и 42 г/л соответственно. Гемостатический профиль коагуляции был нормальным: АЧТВ – 33 с, МНО – 1,08, ТВ – 15 с, содержание фибриногена – 2,2 г/л.

До хирургического вмешательства трансфузиологи были проинформированы о предстоящей операции и ожидаемой ОМК. Было заготовлено и совмещено по 4 упаковки эритроцитарной взвеси и СЗП.

Выполнена операция: удаление хориоидкарциномы правого бокового желудочка и теменно-затылочной области справа с нейрофизиологическим мониторингом. Декомпрессивная гемикраниэктомия справа, пластика твердой мозговой оболочки, пластика кожного лоскута. Операция осложнилась

массивной кровопотерей (более 400% ОЦК), развитием отека и выбухания головного мозга. Длительность операции составила 10 ч.

Применена комбинированная анестезия с искусственной вентиляцией легких (ИВЛ). Индукция осуществлялась внутривенно пропофолом 2 мг/кг, фентанилом 2 мг/кг, рокурнием 0,5 мг/кг. После этого выполнена интубация трахеи эндотрахеальной трубкой 4,5 с манжетой. Пациент был переведен на ИВЛ через реверсивный контур наркозным аппаратом Primus с режимом вентиляции РС CMV. Параметры вентиляции: дыхательный объем – 8 мл/кг, частота дыхания – 20/мин, FiO_2 – 50%, положительное давление в конце выдоха – 4 см вод. ст. Поддерживалась нормовентиляция по данным капнографии. Установлен катетер в лучевую артерию, начат инвазивный мониторинг АД. Также установлены 2 периферических катетера просветом 22G. Поддержание нормотермии на операции осуществлялось за счет использования термоматраса и конвекционных воздушных систем для обогрева пациента. Поддержание анестезии осуществлялось постоянной инфузией фентанила 5 мг/кг/ч, рокурония 0,5 мг/кг/ч, инфузией севофлурана 1 МАК. До возникновения кровопотери введены 20% раствор альбумина 5 мл/кг, раствор Рингера 6 мл/кг/ч, проведена антибиотикопрофилактика цефуроксимом 50 мг/кг. Вазопрессоры не вводились. В ходе операции во время основного этапа удаления опухоли отмечена массивная кровопотеря – темп кровопотери до 7–8 мл/кг/мин. Вызван руководитель анестезиологической службы и инициирован протокол терапии массивной кровопотери. Хирурги совместно с операционной медицинской сестрой осуществляли хирургический гемостаз. За 5 мин после начала кровотечения было потеряно 600 мл крови, что составило примерно 50% ОЦК с развитием критической гипотензии до 48/26 мм рт. ст. В это время анестезиологом болюсно введен гелофузин 25 мл/кг, осуществлена инотропная поддержка норадреналином до 0,3 мкг/кг/мин. Анестезистами осуществлен забор анализов и доставка их в лабораторию. Трансфузиологом проведена выдача заранее подобранных гемокомпонентов, начата процедура подбора и совмещения новых. Лабораторный мониторинг показал снижение уровня гемоглобина и гематокрита до 36 г/л и 9,6% соответственно. Уровень тромбоцитов составил 71×10^9 /л. По газам артериальной крови определялся декомпенсированный метаболический ацидоз (pH 7,19, pCO_2 40,1 ммНг, pO_2 188 ммНг, BE –10,1, лактат 2 ммоль/л), гипокальциемия 0,88 ммоль/л, гиперхлоремия –118 ммоль/л, гипергликемия 7,2 ммоль/л. Введен 4% натрия гидрокарбонат – 100 мл. Через 10 мин от начала кровопотери применена гемотрансфузионная

терапия в соотношении эритроцитарной взвеси и СЗП 1:1. Трансфузировано по 30 мл/кг эритроцитарной взвеси и СЗП. Инотропная поддержка усилена инфузией адреналина. Достигнуто АД 81/42 мм рт. ст., центральное венозное давление 5 мм рт. ст. При этом вазоинотропный индекс составил 65, а период критической гипотензии – 20 мин. За данный период времени потеряно еще 600 мл крови (50% ОЦК). Выполнен забор крови для определения показателей коагулограммы. В дальнейшем волюмическая поддержка осуществлялась сбалансированным солевым раствором Стерофундин изотонический (B.BRAUN MELSUNGEN, AG, Германия). Суммарная инфузия составила 100 мл/кг. Коррекция гипокальциемии осуществлялась постоянной инфузией 10% кальция глюконата – болюс 100 мг/кг за 30 мин, в дальнейшем 10 мг/кг/ч под контролем электролитного состава крови. Темп кровопотери уменьшился до 2–3 мл/кг/мин. Для выполнения хирургического гемостаза потребовался 1 ч. За это время было потеряно еще 2350 мл крови (примерно 200% ОЦК). В коагулограмме отмечалась тотальная гипокоагуляция (АЧТВ, МНО, ТВ и уровень фибриногена составили 56 с, 2,7, 20 с, 0,82 г/л соответственно). По данным экспресс-анализа крови уровень тромбоцитов был 32×10^9 /л, гемоглобин – 58 г/л и гематокрит – 15,8%. Осуществлена дополнительная трансфузия эритроцитарной взвеси 50 мл/кг, СЗП – 50 мл/кг, криопреципитата – 2 дозы, тромбоконцентрата – 2 дозы. Транексамовая кислота введена болюсно 15 мг/кг и ее инфузия 2 мл/кг/ч продолжалась до полной остановки кровотечения. После хирургической ликвидации основной причины кровотечения продолжено оперативное вмешательство, длительность которого составила 4 ч. Во время его проведения сохранялось микрососудистое кровотечение (темп кровопотери 0,3–0,4 мл/кг/мин), на фоне которого потеряно еще 1150 мл крови, это около 100% ОЦК. По данным лабораторных анализов сохранялись метаболический лактатацидоз (максимальная концентрация лактата 5,8 ммоль/л), гипокальциемия, дилуционная коагулопатия. Проведена коррекция данных нарушений. Для коррекции дилуционной коагулопатии дополнительно трансфузированы СЗП – 25 мл/кг, криопреципитат – 2 дозы, тромбоконцентрат – 2 дозы до достижения целевых показателей и полной остановки кровотечения. При достижении уровня фибриногена более 1 г/л введен Протромплекс 600 (BAXTER, AG, Австрия) – 1 флакон. В целях профилактики отека мозга вводили Солукортеф – 25 мг, Лазикс – 0,5 мг/кг. Для достижения целевого гемоглобина (более 100 г/л) потребовалось введение 40 мл/кг эритроцитарной взвеси.

На момент завершения операции по данным лабораторного мониторинга уровни гемоглобина и гематокрита составили 119 г/л и 32,4% соответственно. Уровень тромбоцитов – $41 \times 10^9/\text{л}$. По газам артериальной крови определялись декомпенсированный метаболический ацидоз (pH 7,33, pCO_2 44,1 ммHg, pO_2 178 ммHg, BE –4,1, лактат 3 ммоль/л), гиперхлоремия –113 ммоль/л, гипергликемия 6,9 ммоль/л, гипернатриемия 149 ммоль/л, уровень ионизированного кальция составил 1,22 ммоль/л. По данным коагулограммы при использовании модифицированной системы оценки ISTH (International Society on Thrombosis and Haemostasis – Международное общество по изучению тромбозов и гемостаза) сохранялась коагулопатия (АЧТВ, МНО, ТВ и уровень фибриногена были 48 с, 1,6, 18 с, 1,1 г/л соответственно, уровень D-димера – 600 нг/мл).

В дальнейшем пациент был переведен в отделение реанимации и интенсивной терапии, где была продолжена интенсивная терапия. Через 2 сут после операции проведена ревизия операционной раны, удаление остаточной хориоидкарциномы правого бокового желудочка и правой теменно-затылочной области. Установлен наружный вентрикулярный дренаж. В послеоперационном периоде отмечались эпизоды судорожных приступов (симптоматическая эпилепсия), тетрапарез с преобладанием спастического левостороннего гемипареза, офтальмопарез, угнетение уровня сознания до сопорозного. Через 5 сут после операции пациент находился на самостоятельном дыхании и был независим от дотации кислорода. На 6-е сутки ребенок был переведен в профильное отделение стационара. Через 15 сут после операции ребенку, учитывая гистологический диагноз, наличие остаточной опухоли, метастатическое поражение спинного и головного мозга, агрессивное течение опухолевого процесса, высокий риск прогрессии заболевания и стабилизацию соматического и неврологического статуса, выполнен блок полихимиотерапии (ПХТ) CarboEV по протоколу CPT SIOP 2000. Однако после проведения ПХТ у ребенка выявлена пневмония, которая потребовала нахождения ребенка в отделении реанимации и интенсивной терапии, трахеостомии и продленную ИВЛ. Через 10 дней на самостоятельном дыхании ребенок переведен в профильное отделение, где выполнен второй блок ПХТ (CarboEV/2). Через 4 мес после операции пациент выписан из НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева для последующей госпитализации в паллиативное отделение по месту жительства.

ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка и внедрение протоколов терапии критических инцидентов в педиатрической онкологии –

это крайне трудный и необходимый процесс для улучшения качества оказания высокотехнологичной медицинской помощи. Представленный клинический случай терапии ОМК у ребенка раннего возраста с онкологической патологией головного мозга демонстрирует не только драматизм течения заболевания, но и хорошие результаты слаженной, прекрасно организованной и координированной совместной работы всех специалистов Центра. Данного результата невозможно было бы достичь без применения мультидисциплинарного подхода и отработки навыков командной работы в симуляционном классе НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Несмотря на ретроспективный характер большинства исследований, доказано, что длительность критической гипотензии более 10 мин сопряжена с высокой вероятностью увеличения 30-дневной смертности за счет ишемического повреждения органов и тканей, особенно почек и миокарда [11–13]. Более того, исследования расходов медицинских учреждений, связанных с интраоперационной гипотензией среди некардиохирургических пациентов в США, показывают, что улучшение внутриоперационного контроля артериальной гипотонии в стационаре с годовым объемом в 10 000 некардиохирургических пациентов связано со снижением средней стоимости в пределах от 1,2 до 4,6 млн долларов в год [14]. Поэтому основные действия команды специалистов при выполнении протокола терапии ОМК прежде всего направлены на снижение времени критической гипотензии и скорейшую нормализацию системной гемодинамики, т. е. уменьшение времени гипоперфузии тканей и их гипоксии. К сожалению, несмотря на тщательную подготовку пациента и команды специалистов к операции и четкое выполнение протокола ОМК, при одномоментной массивной кровопотере более 5 мл/кг/мин крайне сложно сократить время критической гипотензии. Первичная волюмическая поддержка в целях восполнения ОЦК должна быть малообъемной, способствовать быстрой и длительной гемодинамической стабилизации. Рандомизированное клиническое исследование CRISTAL доказало, что во время острого тяжелого гиповолемического шока пациенты достигают в целом сходных гемодинамических результатов, используя меньшие объемы коллоидов, чем кристаллоидов [15]. Метаанализ 59 рандомизированных клинических исследований, выполненный S.H. Qureshi, установил, что текущие общие ограничения на использование коллоидных растворов не подтверждаются доказательствами, а риски смертности и повреждения почек, косвенно связанные с применением коллоидных растворов, наблюдаются только у пациентов с сепсисом [16]. Поэтому в целях первичного восполнения ОЦК мы используем растворы модифицирован-

ного жидкого желатина, так как они имеют лучшие онкотические свойства и большую длительность жизни в сосудистом русле по сравнению с кристаллоидными растворами [17]. Кроме этого, доказано, что восполнение острой кровопотери в объеме 30% ОЦК эквивалентным объемом 4% раствора модифицированного жидкого желатина, несмотря на развитие гемодилюции и неполное восстановление АД, сопровождается сопоставимыми с реинфузией аутокрови изменениями кислотно-основного состояния и газового состава артериальной крови [18]. В дальнейшем для управления гемодинамикой мы используем сбалансированные кристаллоидные растворы в сочетании с инотропной поддержкой. При этом мы стараемся наиболее быстро начать заместительную гемокомпонентную и гемостатическую терапию, а также агрессивную терапию гипотермии, ацидоза и гипокальциемии. Это стало возможным за счет заблаговременной предоперационной заготовки гемокомпонентов и непосредственного участия в реализации протокола ОМК трансфузиологов и гематологов. Применение нами СЗП, тромбоконцентрата и эритроцитарной взвеси в соотношении 1:1:1 обусловлено результатами исследования PROPPR, которое выявило большую вероятность достижения гемостаза у пациентов с тяжелыми травмами и ОМК, хотя не привело к значительным различиям в 24-часовой и 30-дневной смертности [19]. Однако даже эти меры при терапии ОМК у детей не способны предотвратить развитие и прогрессирование гипокоагуляционного микрососудистого кровотечения. Мы связываем это с недостаточной быстротой получения данных о параметрах гемостаза из лаборатории, несмотря на наличие пневмопечки и непосредственное участие гемостазиолога в работе команды. Применение рациональной программы трансфузионной и гемостатической терапии после первичного этапа стабилизации гемодинамики при массивном кровотечении у детей невозможно без адекватного прикроватного мониторинга системы свертывания крови. Предполагается, что технология тромбоэластографии позволяет значительно быстрее получить ценные данные для целенаправленной терапии гемостаза и уменьшить трансфузионную нагрузку [20]. Помимо этого, стратегия замены донорских гемостатических препаратов на рекомбинантные препараты фибриногена и концентраты факторов свертывания способна улучшить результаты терапии [21–23].

Таким образом, несмотря на несомненную эффективность представленного мультидисциплинарного подхода к терапии интраоперационной ОМК у детей с онкологическими заболеваниями, существует необходимость создания индивидуализированной технологии, которая объединит методы решения проблем нарушений гемодинамики и системы гемо-

стаза, а также сделает рациональным применение инфузионной, гемотрансфузионной и гемостатической терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение мультидисциплинарного подхода в терапии ОМК может быть эффективно только при должной организации данного процесса, а также при систематическом обучении персонала и отработке командой навыков работы в симуляционном классе медицинского учреждения.

Темп кровопотери более 1 мл/кг/мин во время хирургического вмешательства является хорошим практическим критерием для инициации протокола терапии ОМК.

В целях минимизации неблагоприятных последствий и развития осложнений основным компонентом терапии ОМК помимо первичной хирургической остановки кровотечения являются действия, направленные на снижение времени критической гипотензии и скорейшую нормализацию системной гемодинамики. После выполнения этих условий работа команды должна быть сосредоточена на терапии приобретенной коагулопатии и профилактике синдрома массивных трансфузий.

Перспективы улучшения данного протокола могут быть представлены наличием в операционной тромбоэластографа для осуществления экстренной диагностики и цель-ориентированной терапии гемостатических нарушений.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы статьи выражают благодарность всем специалистам ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, принявшим участие в реализации данного протокола ОМК.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Leonov N.P. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4364-8937>

Shchukin V.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7945-2565>

Novichkova G.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>

Spiridonova E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5230-5725>

Литература

1. Феоктистов П.И., Карманов И.Е. Экстремальная операционная кровопотеря в онкохирургии: приговор пациенту или вызов персоналу? Клиническая практика 2019; 10 (3): 42–8. DOI: 10.17816/clinpract10342–48
2. Cannon J.W. Hemorrhagic Shock. *N Engl J Med* 2018; 378 (4): 370–9. DOI: 10.1056/NEJMr1705649
3. Simmons J.W., Powell M.F. Acute traumatic coagulopathy: pathophysiology and resuscitation. *Br J Anaesth* 2016; 117 (Suppl 3): iii31–43. DOI: 10.1093/bja/aew328
4. Kamyszek R.W., Leraas H.J., Reed C., Ray C.M., Nag U.P., Poisson J.L., Tracy E.T. Massive transfusion in the pediatric population: A systematic review and summary of best-evidence practice strategies. *J Trauma Acute Care Surg* 2019; 86 (4): 744–54. DOI: 10.1097/TA.0000000000002188
5. Мороз В.В., Рыжков И.А. Острая кровопотеря: регионарный кровоток и микроциркуляция (обзор, часть I). Общая реаниматология 2016; 12 (2): 66–89. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-66-89
6. Maw G., Furryk C. Pediatric Massive Transfusion: A Systematic Review. *Pediatr Emerg Care* 2018; 34 (8): 594–98. DOI:10.1097/PEC.0000000000001570
7. Пшениснов К.В., Александрович Ю.С. Массивная кровопотеря в педиатрической практике. Гематология и трансфузиология 2020; 65 (1): 70–86. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-1-70-86
8. Gilley M., Beno S. Damage control resuscitation in pediatric trauma. *Curr Opin Pediatr* 2018; 30 (3): 338–43. DOI: 10.1097/MOP.0000000000000617
9. Протокол реанимации и интенсивной терапии при острой массивной кровопотере. Клинические рекомендации Общероссийской общественной организации «Федерация анестезиологов и реаниматологов». 2018 г. Доступно по: <https://congress-med.ru/assets/files/2018/2018-rossijskie-rekomendaczii-po-neotlozhnoj-pomoshhi-pri-ostroj-krovopotere.pdf>. Ссылка активна на 20.07.2020.
10. Sarganas G., Schaffrath Rosario A., Berger S., Neuhauser H.K. An unambiguous definition of pediatric hypotension is still lacking: Gaps between two percentile-based definitions and Pediatric Advanced Life Support/Advanced Trauma Life Support guidelines. *J Trauma Acute Care Surg* 2019; 86 (3): 448–53. DOI: 10.1097/TA.0000000000002139
11. Wesselink E.M., Kappen T.H., Torn H.M., Slooter A.J.C., van Klei W.A. Intraoperative hypotension and the risk of postoperative adverse outcomes: a systematic review. *Br J Anaesth* 2018; 121 (4): 706–21. DOI: 10.1016/j.bja.2018.04.036
12. Gu W.J., Hou B.L., Kwong J., Tian X., Qian Y., Cui Y. et al. Association between intraoperative hypotension and 30-day mortality, major adverse cardiac events, and acute kidney injury after non-cardiac surgery: A meta-analysis of cohort studies. *Int J Cardiol* 2018; 258: 68–73. DOI: 10.1016/j.ijcard.2018.01.137
13. Walsh M., Devereaux P.J., Garg A.X., Kurz A., Turan A., Rodseth R.N. et al. Relationship between intraoperative mean arterial pressure and clinical outcomes after noncardiac surgery: toward an empirical definition of hypotension. *Anesthesiology* 2013; 119 (3): 507–15. DOI: 10.1097/ALN.0b013e3182a10e26
14. Keuffel E.L., Rizzo J., Stevens M., Gunnarsson C., Maheshwari K. Hospital costs associated with intraoperative hypotension among non-cardiac surgical patients in the US: a simulation model. *J Med Econ* 2019; 22 (7): 645–51. DOI: 10.1080/13696998.2019.1591147
15. Heming N., Elatrous S., Jaber S., Dumenil A.S., Cousson J., Forceville X. et al. Haemodynamic response to crystalloids or colloids in shock: an exploratory subgroup analysis of a randomised controlled trial. *BMJ Open* 2017; 7 (10): e016736. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-016736
16. Qureshi S.H., Rizvi S.I., Patel N.N., Murphy G.J. Meta-analysis of colloids versus crystalloids in critically ill, trauma and surgical patients. *Br J Surg* 2016; 103 (1): 14–26. DOI: 10.1002/bjs.9943
17. Orbegozo Cortés D., Gamarano Barros T., Njimi H., Vincent J.L. Crystalloids versus colloids: exploring differences in fluid requirements by systematic review and meta-regression. *Anesth Analg* 2015; 120 (2): 389–402. DOI: 10.1213/ANE.0000000000000564
18. Рыжков И.А., Заржецкий Ю.В., Молчанов И.В. Эффективность применения раствора модифицированного жидкого желатина и аутокрови для восполнения острой кровопотери. Анестезиология и реаниматология 2018; 6: 75–81. DOI: 10.17116/anesthesiology201806175
19. Holcomb J.B., Tilley B.C., Baraniuk S., Fox E.E., Wade C.E., Podbielski J.M. et al. Transfusion of plasma, platelets, and red blood cells in a 1:1:1 vs a 1:1:2 ratio and mortality in patients with severe trauma: the PROPPR randomized clinical trial. *JAMA* 2015; 313 (5): 471–82. DOI: 10.1001/jama.2015.12
20. Dias J.D., Sauaia A., Achneck H.E., Hartmann J., Moore E.E. Thromboelastography-guided therapy improves patient blood management and certain clinical outcomes in elective cardiac and liver surgery and emergency resuscitation: A systematic review and analysis. *J Thromb Haemost* 2019; 17 (6): 984–94. DOI: 10.1111/jth.14447
21. Ranucci M., Baryshnikova E., Pistuddi V., Menicanti L., Frigiola A. Surgical and Clinical Outcome REsearch (SCORE) Group. The effectiveness of 10 years of interventions to control postoperative bleeding in adult cardiac surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2017; 24 (2): 196–202. DOI:10.1093/icvts/ivw339
22. Maw G., Furryk C. Pediatric Massive Transfusion: A Systematic Review. *Pediatr Emerg Care* 2018; 34 (8): 594–8. DOI:10.1097/PEC.0000000000001570
23. Cunningham M.E., Rosenfeld E.H., Zhu H., Naik-Mathuria B.J., Russell R.T., Vogel A.M. A High Ratio of Plasma: RBC Improves Survival in Massively Transfused Injured Children. *J Surg Res* 2019; 233: 213–20. DOI:10.1016/j.jss.2018.08.007

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 26.05.2020
Принята к печати 22.06.2020

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-50-53

Спектр генетических вариантов α - и β -глобиновых кластеров у пациентов с гемоглобинопатиями, проживающих на территории Республики Дагестан

С.Г. Манн¹, Е.В. Райкина¹, И.М. Юнусова²

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

²ГБУ РД «Детская республиканская клиническая больница им. Н.М. Кураева» Министерства здравоохранения Республики Дагестан, Махачкала

Контактная информация:

Манн Светлана Геннадьевна,
научный сотрудник лаборатории
молекулярной биологии ФГБУ
«НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: 9035974212@mail.ru

Гемоглобинопатии – это группа наследственных гемолитических анемий, распространенных в странах Средиземноморья, Юго-Восточной Азии и Африки, т. е. там, где ранее была распространена малярия. В связи с миграцией населения и увеличением числа смешанных браков данная проблема актуальна и для России. Среди субъектов Российской Федерации Республика Дагестан является наиболее эндемичным регионом по заболеваемости гемоглобинопатиями. Данное исследование было направлено на выявление спектра мутаций у пациентов с гемоглобинопатиями, проживающих на территории Республики Дагестан. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Материал 100 пациентов был направлен на молекулярно-генетическое исследование в лабораторию молекулярной биологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Генетические варианты генов α - и β -глобиновых кластеров были определены с помощью метода мультиплексной лигазозависимой амплификации проб и секвенирования методом Сэнгера. Обнаружено 18 генетических вариантов, встречающихся с разной частотой. Частота мутаций β -глобинового кластера составила 62,5%, α -глобинового кластера – 23,2%, варианты, приводящие к возникновению аномального гемоглобина, – 14,3%. Также были определены 5 наиболее частых генетических вариантов среди данной когорты пациентов: CD8(-AA) и IVS1-110 (G>A), -(α)3.7 и -(α)20.5 и вариант CD6 GAG>GTG [Glu>Val], приводящий к возникновению аномального гемоглобина S.

Ключевые слова: гемоглобинопатия в России, гемоглобинопатия в Республике Дагестан, β -талассемия, α -талассемия, гемоглобин S

Манн С.Г. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 50–53.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-50-53

The spectrum of genetic variants of the α - and β -globin clusters in patients with hemoglobinopathies living in the Republic of Dagestan

S.G. Mann¹, E.V. Raikina¹, I.M. Yunusova²

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

²N.M. Kuraev Children's Republican Clinical Hospital, Ministry of Healthcare of the Republic of Dagestan, Makhachkala

Hemoglobinopathies are a group of hereditary hemolytic anemias common in the countries of the Mediterranean, Southeast Asia and Africa, where malaria was previously common. Due to population migration and an increase in the number of mixed marriages, hemoglobinopathies are also relevant to Russia. Among the Russian Federation's subjects, the Republic of Dagestan is the most endemic region for the incidence of hemoglobinopathies. This study aimed to identify the spectrum of mutations in patients with hemoglobinopathies living in the Republic of Dagestan. The research was approved by Independent ethic committee and the academic board of Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia). Material from 100 patients was sent for molecular genetic research to the Laboratory of Molecular Biology, Federal State Budget Scientific Institution Scientific Research Center for Surgery named after Dmitry Rogachev. Genetic variants of the genes of the α - and β -globin clusters were determined using multiplex ligase-dependent amplification of samples and Sequencing by the Sanger method. Eighteen genetic variants with different frequencies were detected. The mutation frequency of the β -globin cluster was 62.5%, the α -globin cluster was 23.2%, and the variants leading to the appearance of abnormal hemoglobin were 14.3%. The five most common genetic variants among this cohort were also identified: CD8(-AA) and IVS1-110 (G>A), -(α) 3.7 and -(α) 20.5 and the CD6 variant GAG>GTG [Glu>Val] leading to abnormal hemoglobin S.

Key words: hemoglobinopathy in Russia, hemoglobinopathy in the Republic of Dagestan, β -thalassemia, α -thalassemia, hemoglobin S

Mann S.G., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 50–53.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-50-53

Гемоглобинопатии представляют собой наиболее распространенные аутосомно-рецессивные моногенные нарушения во всем мире. Среди них выделяют талассемии, вызванные нарушением синтеза полипептидных цепей, входящих в состав нормальных гемоглобинов, и аномальные гемоглобины, причиной

которых являются нарушения первичной структуры гемоглобина [1].

По данным Всемирной организации здравоохранения, рождаются около 300 000–500 000 гомозиготных носителей данной патологии в год, из них большая часть приходится на серповидноклеточную

болезнь, причиной которой является аномальный гемоглобин S (HbS). Среди всех новорожденных с гемоглобинопатиями 60 000–70 000 случаев приходится на талассемию, около 50 000 из них умирают в раннем возрасте [2].

Гемоглобинопатии являются регион-специфичными нарушениями, каждая популяция имеет свой характерный спектр генетических вариантов [3].

В Российской Федерации заболевание распространено в Поволжье (среди башкир и татар) и Республике Дагестан, но в связи с миграцией населения и увеличением числа смешанных браков частота β -талассемии в гетерозиготном состоянии среди русской популяции составляет около 1% [4].

К настоящему времени описано более 2 000 мутаций, затрагивающих α - и β -глобиновые кластеры, которые приводят к возникновению различных форм гемоглобинопатии [5].

Основной причиной β -талассемии являются точечные мутации в промоторной области, кодирующей последовательности, сайтах сплайсинга и полиаденилированных сайтах гена *HBB*, расположенного на коротком плече 11-й хромосомы, приводящие к нарушению сплайсинга, сдвигу рамки считывания или образованию преждевременного терминирующего кодона. С меньшей частотой встречаются протяженные делеции, затрагивающие гены β -глобинового кластера и β LC-регуляторные последовательности [2].

Наиболее частой причиной α -талассемии являются протяженные делеции, затрагивающие один или оба α -глобиновых гена (*HBA1*, *HBA2*), расположенных на коротком плече 16-й хромосомы [6].

Точечные мутации в генах α - и β -глобиновых кластеров, в результате которых происходит замена аминокислоты, приводят к образованию аномальных гемоглобинов. Такие гемоглобины могут иметь повышенное или пониженное сродство к кислороду или нестабильность белка [7].

Цель исследования: провести оценку распространенности и спектра мутаций при гемоглобинопатиях среди жителей Республики Дагестан.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. С 2017 по 2019 г. в лабораторию молекулярной биологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России поступил материал 100 пациентов из Республики Дагестан в возрасте от 1 года до 14 лет, у которых по результатам консультации гематолога была заподозрена гемоглобинопатия. Законные представители всех пациентов подписали добровольное информированное согласие

Таблица 1

Последовательность праймеров

Table 1
Primer sequence

Праймер Primer	Последовательность Sequence
HBB_Promot_1ex_F	CAATATGCTTACCAAGCTGTGATTC
HBB_Promot_1ex_R	TATCAGAAACCAAGAGTCTTCTCT
HBB_Promoter_Rseq	AGTTGTGTGACAGAGCAATG
HBB_1-2ex_F	AGGTACGGCTGTGATCACTTAG
HBB_1-2ex_R	TCCCTTCTCTATGACATGAACCTT
HBB_2ex_Fseq	CATGTGGAGACAGAGAAGACTC
HBB_intr2_1F	GTGAGCTGCACTGTGACAAG
HBB_intr2_1R	CCT(G/T)ATTTGGTCAATATGTGTACAC
HBB_intr2_2F	AACCTTACACAGTCTGCCTAGTACA
HBB_intr2_2R	ACCCAGAAATTATCACTGTTATTCTTTAG
HBB_intr2_3F	ATCTCTTTCTTTCAGGGCAATAATGA
HBB_intr2_3R	CATTAGCCACACCAGCCAC
HBB_3ex_3UTR_F	GCTACAATCCAGCTACCATTTCTG
HBB_3ex_3UTR_Rseq	GGTTGAACTAGCTCTTCATTTTC
HBB_3ex_3UTR_R_PCR	CCTCACCTTCTTTCATGGAGTTTAAAG
HBA1_3ex_F	CCCTCGGCCCACTGAC
HBA1_3ex_R	CCTGGCACGTTTGTGAGG
HBA2_3ex_F	GCCTGGGCGCACTGAC
HBA2_3ex_R	GTTGGCACATTCCGGGATAGAGAG

на проведение молекулярно-генетического исследования α - и β -глобиновых кластеров.

Для сбора образцов цельной крови использовались пробирки с EDTA. Процедура выделения ДНК из образцов осуществляли с помощью коммерческого набора реагентов «AmpliPrime DNA-sorb B» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) согласно инструкциям производителя. Для элюции ДНК использовался ТЕ-буфер. Концентрация и качество полученного препарата ДНК были оценены с помощью измерения на спектрофотометре NanoDrop (Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA).

Метод секвенирования по Сэнгеру использовался для детекции однонуклеотидных замен и непротяженных делеций, инсерций и дупликаций.

Секвенирование генов *HBB*, *HBA1* и *HBA2* проводили с использованием ДНК-праймеров, которые фланкируют 5'UTR, 3'UTR, 3 экзона и 2 интрона гена β -глобина и 3-й экзон генов *HBA1*, *HBA2* (таблица 1).

Для детекции крупных делеций и дупликаций, в том числе повреждений, затрагивающих регуляторные последовательности, один или несколько экзонов генов α - и β -глобиновых кластеров мы использовали метод мультиплексной лигазозависимой амплификации проб (MLPA, Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification) с применением коммерческих наборов «SALSA MLPA P102 HBB probemix» (MRC, Holland, Netherlands) и «SALSA MLPA P140 HBA probemix» (MRC, Holland, Netherlands).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обнаружено 56 генетических вариантов, из них приводящих к β -талассемии – 62,5% ($n = 35$), к α -та-

лассемии – 23,2% ($n = 13$) и к возникновению аномального гемоглобина – 14,3% ($n = 8$).

Спектр мутаций β -глобинового кластера представлен 13 генетическими вариантами. Наиболее распространенными оказались CD8(-AA) и IVSI-110 (G>A), их частота составила 34,3% ($n = 12$) и 17,1% ($n = 6$) соответственно, из них 3 пациента были гомозиготны по CD8(-AA) и 1 – по IVSI-110 (G>A). Спектр мутаций α -глобинового кластера представлен 4 протяженными делециями. $-(\alpha)3.7$ и $-(\alpha)20.5$ встретились чаще остальных, их частота составила 46,2% ($n = 6$) и 38,5% ($n = 5$) соответственно; $-(\alpha)4.2$, --Med обнаружены в единичных случаях. У 3 (23%) пациентов выявлена гемоглобинопатия H в результате сонаследования $-(\alpha)3.7/-(\alpha)20.5$ и у 1 (7,7%) – $-(\alpha)3.7/--Med$. Генетический вариант CD6 GAG>GTG [Glu>Val], приводящий к возникновению аномального HbS, обнаружен у 7 пациентов,

что составляет 87,5% всех выявленных аномальных гемоглобинов в данной когорте. В 3 случаях вариант обнаружен в гомозиготном состоянии, в 1 случае HbS сочетался с β -талассемией (HbS+CD8(-AA)). Мутация CD30 (G>C) [Arg>Thr], приводящая к возникновению нестабильного варианта гемоглобина Монрое, обнаружена в единичном случае (12,5%) (таблица 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

ДНК-исследование глобиновых генов позволяет выявить как точковые мутации, так и делеции различной протяженности. Благодаря данному исследованию, мы выявили 5 наиболее часто встречающихся вариантов среди пациентов, проживающих на территории Республики Дагестан: CD8(-AA) и IVSI-110 (G>A), приводящие к β -талассемии, $-(\alpha)3.7$ и $-(\alpha)20.5$, приводящие к α -талассемии, CD6 GAG>GTG [Glu>Val], приводящий

Таблица 2

Спектр и частота 19 генетических вариантов, идентифицированных у пациентов с гемоглобинопатиями из Республики Дагестан

Table 2

Summary of the 19 identified mutations and their frequencies in patients hemoglobinopathies in Dagestan

№	Генетический вариант Mutation name	Номенклатура HGVS HGVS name	Аллельный фенотип Allele phenotype	Этническая принадлежность Ethnic origin	n	%	Гомозиготы, n Homozygotes, n
β-талассемия <i>β-thalassaemia</i>							
1	CD8(-AA)	HBB:c.25_26delAA	$\beta 0$	Mediterranean	12	34,3	3
2	IVSI-110(G>A)	HBB:c.93-21G>A	$\beta +$	Mediterranean	6	17,1	1
3	IVSII-654 (C>T)	HBB:c.316-197C>T	$\beta 0/\beta +$	Chinese, SE Asian, Japanese	3	8,6	
4	CD15(G>A) (TGG-TGA)	HBB:c.48G>A	$\beta 0$	Portuguese, Japanese	3	8,6	
5	CD82/83(-G)	HBB:c.251delG	$\beta 0$	Azerbaijani, Czech, Croatian	2	5,7	
6	CD44(-C)	HBB:c.135delC	$\beta 0$	Kurdish	2	5,7	
7	CD8/9(+G)	HBB:c.27dupG	$\beta 0$	Asian Indian, Japanese, Pakistani	1	2,9	
8	IVSI-1(G>A)	HBB:c.92+1G>A	$\beta 0$	Mediterranean	1	2,9	
9	IVSII-1(G>A)	HBB:c.315+1G>A	$\beta 0$	Mediterranean, African-American, Pakistani	1	2,9	
10	CD 30 (G>A)	HBB:c.92G>A	$\beta 0$	Bulgarian	1	2,9	
11	CD41/42(-CTTT)	HBB:c.126_129delCTTT	$\beta 0$	Chinese, SE Asian, Indian, Thai	1	2,9	
12	CD37(G>A) (TGG-TGA)	HBB:c.114G>A	$\beta 0$	Saudi Arabian	1	2,9	
13	IVSII-745(C>G)	HBB:c.316-106C>G	$\beta +$	Mediterranean	1	2,9	
<i>Bcero Total</i>					35	100,0	
α-талассемия <i>α-thalassaemia</i>							
14	$-(\alpha)3.7$	N/A	$\alpha +$	Worldwide	6	46,2	
15	$-(\alpha)20.5$	N/A	$\alpha 0$	Mediterranean	5	38,5	
16	$-(\alpha)4.2$	N/A	$\alpha +$	Worldwide	1	7,7	
17	--Med	N/A	$\alpha 0$	Mediterranean	1	7,7	
<i>Bcero Total</i>					13	100,0	
Аномальный гемоглобин <i>Abnormal hemoglobin</i>							
18	CD6 GAG>GTG [Glu>Val] (HbS)	HBB:c.20A>T	Sickle-cell	African, Indian, and many other	7	87,5	3
19	CD30 (G>C) [Arg>Thr] (Hb Monroe)	HBB:c.92G>C	Unstable	Mediterranean, African-American, N Africans, Kurds, UAE, African, Libyan, Tunisian, Pakistani	1	12,5	
<i>Bcero Total</i>					8	100,0	

Примечание. HGVS – Общество по изучению вариаций генома человека; N/A – неприменимо.

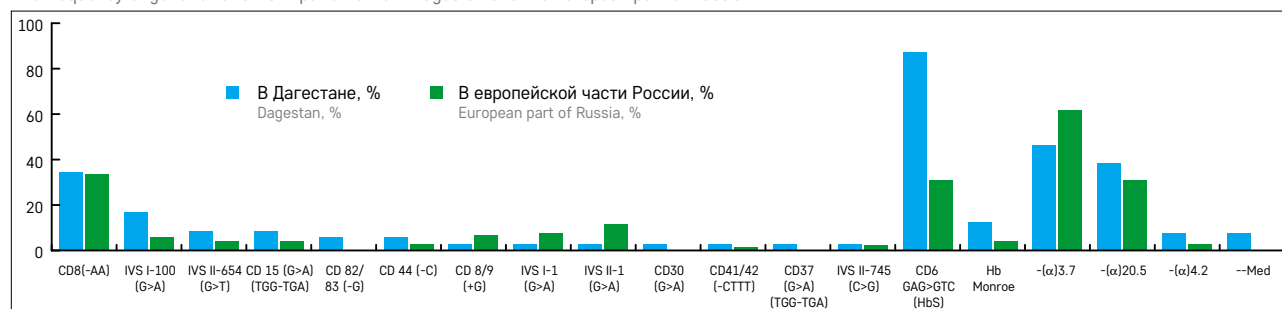
Note. HGVS – Human Genome Variation Society; N/A – not applicable.

Рисунок

Частота встречаемости обнаруженных генетических вариантов у пациентов из Республики Дагестан и европейской части России

Figure

The frequency of genetic variants in patients from Dagestan and the European part of Russia



к возникновению аномального HbS. Все эти варианты, согласно последним данным, имеют очень высокую распространенность в Азербайджане (31%, 9%, 34%, 39% и 7% соответственно [5]). Среди всех республик бывшего СССР Азербайджан был признан наиболее эндемичным по распространению гемоглобинопатии. Научные исследования, проводившиеся в последние десятилетия в Республике Дагестан, показали, что талассемии и аномальный HbS встречаются в основном у лиц одной из многочисленных этнических групп – дагестанских азербайджанцев [8–12].

На рисунке представлены данные о частоте встречаемости обнаруженных генетических вариантов в европейской части России и Республике Дагестан. У пациентов с гемоглобинопатиями, проживающих на территории европейской части России, наиболее частыми также оказались варианты CD8(-AA) (42,4%), -(α)3.7kb (62%), -(α)20.5kb (31%), однако вариант CD6 GAG>GTG [Glu>Val], приводящий к возникновению аномального HbS, среди жителей Республики Дагестан встречается почти в 3 раза чаще (31% в европейской

части России и 87,5% в Республике Дагестан). Также 3 варианта: --Med, CD30(G>A) и CD82/83(-G) не были обнаружены у пациентов из европейской части России [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования спектра молекулярно-генетических нарушений глобинового кластера позволят оптимизировать оказание не только специализированной помощи гематологической службой, но и медико-генетических консультаций региона.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено при спонсорской поддержке исследовательского гранта № 2196-ДОП, предоставленного ООО «Новартис Фарма».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Mann S.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1014-5196>

Raykina E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-2053>

Литература

- Goss C., Giardina P., Degtyarova D., Kleinert D., Sheth S., Cushing M. Red blood cell transfusions for thalassemia: results of a survey assessing current practice and proposal of evidence-based guidelines. *Transfusion* 2014; 54 (7): 1773–81. DOI: 10.1111/trf.12571
- Румянцев А.Г. Гемоглобинопатии и талассемические синдромы. Под ред. Румянцев А.Г., Токарева Ю.Н., Сметаниной Н.С. М.: Изд-во «Практическая медицина»; 2015. С. 196–197.
- Henderson S., Timbs A., McCarthy J., Gallienne A., Van Mourik M., Masters G., et al. Incidence of haemoglobinopathies in various populations – the impact of immigration. *Clin Biochem* 2009; 42 (18): 1745–56. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2009.05.012
- Лохматова М.Е., Сметанина Н.С., Финигонова Н.А. Эпидемиология гемоглобинопатий в Москве. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского* 2009; 87 (4): 46–9. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.ithanet.eu/db/ithagenes>.
- Brimhall B., Hollan S., Jones R.T., Koler R.D., Stocklen Z., Szelenyi J.G. Multiple alpha-chain loci for human hemoglobin. *Clin Res* 1970; 18 (abst.): 184.
- Thom C.S., Dickson C.F., Gell D.A., Weiss M.J. Hemoglobin variants: biochemical properties and clinical correlates. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2013; 3 (3): a011858. DOI: 10.1101/cshperspect.a011858
- Постников Ю.В., Токарев Ю.Н. Пренатальная диагностика наследственных гемоглобинопатий. *Гематология и трансфузиология* 1988; (1): 39.
- Токарев Ю.Н., Хасаев А.Ш., Беляев В.В. Гемоглобинопатия в ДАССР. *Гемолитические анемии: I Республиканская научная конференция*. Душанбе; 1976. С. 18–19.
- Токарев Ю.Н. Важнейшие наследственные анемии. *Клиническая медицина* 1984; (2): 125–33.
- Токарев Ю.Н. Гемоглобинопатии: итоги и перспективы. 2-й съезд гематологов и трансфузиологов Азербайджана. Баку; 1990. С. 48–50.
- Хуцишвили Г.Э. Серповидноклеточная болезнь и β-талассемия: клиника, диагностика, лечение. Тбилиси; 1977.
- Mann S., Varlamova T., Raykina E., Kazanets E., Litvin E., Smetanina N. Mutation spectrum in HBB, HBA1 and HBA2 genes in patients from European part of Russia. 23rd Congress European Hematology Association, Sweden, Stockholm, June 14–17, 2018. PS1522.

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 25.08.2020
Принята к печати 15.09.2020

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-54-60

Современные возможности дистанционной диагностики болезни Виллебранда у детей, проживающих на территории Российской Федерации

А.В. Полетаев¹, Е.А. Серегина^{1,2}, Д.В. Федорова¹, П.А. Жарков¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

²ФГБУН Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва

Диагностические возможности выявления болезни Виллебранда (БВ) у детей ограничены во многих регионах нашей страны. В связи с этим в 2019 г. Всероссийским обществом гемофилии была создана программа, предусматривающая дистанционную диагностику данного заболевания в регионах. Цель исследования: оценить промежуточные результаты функционирования программы дистанционной диагностики БВ у детей. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В рамках программы в соответствии с решением врача-гематолога по месту жительства пациентам проводился отбор периферической крови с последующей заморозкой и транспортировкой в лабораторию клинического гемостаза ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. За период с 11.04.2019 по 07.08.2020 поступило 72 замороженных образца периферической крови детей в возрасте до 18 лет из 21 региона Российской Федерации. Оценивали концентрацию антигена и ристоцетин-кофакторную активность фактора Виллебранда (ФВ), а также активность фактора свертывания крови VIII. Нарушение пробоподготовки было выявлено в 1 (1,4%) образце. В результате проведенного анализа снижение активности ФВ в пределах 30–50% было выявлено в 16,7% случаев, менее 30% – также в 16,7% случаев, а концентрации антигена ФВ – в 13,9% и 9,7% проб соответственно. Среди пациентов с активностью ФВ менее 30% 1-му типу соответствовал 1 (8,3%) пациент, 2-му типу – 10 (83,3%) человек, 3-му типу – 1 (8,3%) ребенок. Снижение фактора VIII на фоне нормальных значений активности и антигена ФВ было выявлено в 6 (8,3%) случаях, при этом уменьшение отношения активности фактора свертывания крови VIII к антигену ФВ – у 8 (11,1%) детей. Применение программы дистанционной диагностики БВ позволило выявить патологический результат у 30 (41,7%) пациентов, среди которых лабораторная картина, характерная для данного заболевания, была обнаружена в 16,7% случаев, а в повторном уточняющем обследовании с применением расширенной панели лабораторных исследований нуждаются 18 (25%) человек. Данная программа имеет большой потенциал, особенно применительно к малонаселенным регионам страны, в которых налаживание региональной диагностики может быть экономически нецелесообразно.

Ключевые слова: болезнь Виллебранда, дети, кровотечение, фактор, диагностика, геморрагический синдром

Полетаев А.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 54–60.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-54-60

The current status of remote diagnosis of von Willebrand disease in children in Russia

A.V. Poletaev¹, E.A. Seregina^{1,2}, D.V. Fedorova¹, P.A. Zharkov¹

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

²Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow

The diagnosis of von Willebrand disease (vWD) in children remains a challenge in many regions of our country. This encouraged the Russian Hemophilia Society to create, in 2019, a special diagnostic programme offering remote diagnosis of vWD to patients in regions. Objectives: An interim evaluation of the effectiveness of the programme for remote diagnosis of vWD in children. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation. Under this programme, if advised by a hematologist at the place of residence, a patient's peripheral blood was collected, frozen and sent to the Clinical Hemostasis Laboratory at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology. Over the period from 11.04.2019 to 07.08.2020, we received 72 frozen peripheral blood samples from children under the age of 18 sent from 21 regions of the Russian Federation. Von Willebrand factor (vWF) ristocetin cofactor activity, vWF antigen levels as well as coagulation factor VIII activity were measured. Out of the 72 samples, only one (1.4%) was inadequate. Reduced vWF activity (30–50%) was observed in 16.7% of cases, and another 16.7% of patients had vWF activity < 30%. vWF antigen levels were 30–50 % in 13.9 % of patients and < 30% in 9.7% of cases. Among the patients with vWF activity < 30%, 1 patient (8.3%) had type 1 vWD, 10 patients (83.3%) – type 2 vWD, 1 child (8.3%) – type 3 vWD. Six children (8.3%) demonstrated reduced factor VIII activity while maintaining normal vWF activity and antigen levels. The coagulation factor VIII activity/vWF antigen ratio was decreased in 8 children (11.1%). The vWD remote diagnosis programme has allowed us to detect abnormalities in 30 patients (41.7%), 16.7% of whom demonstrated laboratory features characteristic of vWD. Eighteen children (25%) require further, more comprehensive laboratory testing. This programme has great potential, especially in underpopulated regions where the development of local diagnostic capabilities may not be economically viable.

Key words: von Willebrand disease, children, bleeding, factor, diagnosis, hemorrhagic syndrome

Poletaev A.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 54–60.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-54-60

Контактная информация:

Полетаев Александр Владимирович,
заведующий лабораторией клинического
гемостаза ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: poletaev_alexandr@mail.ru

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 25.08.2020

Accepted 15.09.2020

Correspondence:

Alexander V. Poletaev,
Head of the Clinical Hemostasis Laboratory
at the Dmitry Rogachev National Medical
Research Center of Pediatric Hematology,
Oncology and Immunology, Ministry
of Healthcare of the Russian Federation
Address: 117997, Russia, Moscow,
Samory Mashela st., 1
E-mail: poletaev_alexandr@mail.ru

Блезнь Виллебранда (БВ) является одной из наиболее часто встречающихся геморрагических коагулопатий [1–3]. Несмотря на широкую распространенность мутаций гена фактора Виллебранда (ФВ), которые могут быть обнаружены с частотой до 1 на 100 человек, клинически значимые проявления в виде повышенной кровоточивости у пациентов с нарушением количества или функции ФВ выявляют гораздо реже [4]. Во многом это определено как высокой вариабельностью фенотипических проявлений, так и культурологическими, социальными и иными особенностями, обуславливающими интерпретацию геморрагических проявлений пациентом и его семьей и служащими поводом для обращения к врачу [5]. Немаловажным остается и тот факт, что исследования системы гемостаза требуют тщательного соблюдения преаналитического этапа, могут быть достаточно затратными и не выполняются в полной мере во всех регионах нашей страны. В последнее время появились данные о постепенном изменении концентрации ФВ с возрастом, а также о вариабельности его содержания в крови у одного и того же пациента: суточные, месячные или сезонные колебания могут добавить погрешность в интерпретации однократного измерения концентрации или активности ФВ, что также снижает общий уровень выявляемости заболевания [6–8].

Исходя из распространенности данного заболевания в западноевропейской популяции (около 1–2% населения [3, 9]), создается впечатление, что выявляемость БВ на территории Российской Федерации (РФ), которая составляет менее 0,01% [10], недостаточна. Так, на 25.10.2018 в Национальном регистре пациентов, получающих лекарственное обеспечение препаратами концентратов факторов свертывания, состояло 2204 человека с БВ, что на порядок ниже расчетной частоты встречаемости данного заболевания, которая составляет 1–2 на 10 000 для клинически значимых форм [10]. Большинство экспертов сходятся во мнении, что эта цифра в РФ объясняется как сложностью диагностики, так и преобладанием легких форм геморрагий, однако с которыми пациенты обращаются уже при возникновении угрожающих осложнений, например на фоне травм или оперативных вмешательств. Клиническое течение БВ может значительно ухудшить уровень жизни пациента, поэтому необходимо проведение профилактических мероприятий по предупреждению осложнений. Учитывая актуальность проблемы диагностики БВ на территории нашей страны, в 2019 г. Всероссийским обществом гемофилии была создана программа, предусматривающая дистанционную диагностику БВ в регионах (далее – Программа). В качестве базы для лабораторной диагностики БВ у детей была выбрана лаборатория клинического гемостаза ФГБУ «НМИЦ

ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В рамках реализации Программы мы провели промежуточный анализ данных для оценки частоты выявляемости БВ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

В ходе разработки алгоритма Программы был составлен опросник, предусматривающий оценку тяжести клинических проявлений и данные инициальной лабораторной диагностики, на основании которых лечащий врач принимает решение о направлении биологического материала пациента для дистанционной диагностики. Высокотехнологичная лабораторная диагностика требует соблюдения правил обработки, транспортировки и хранения биологического материала, предназначенного для оценки состояния системы гемостаза. Для обеспечения качества получаемых результатов была разработана памятка по преаналитическим требованиям к образцам. В случае наличия показаний пациентам (родителям) предлагалось заполнить форму информированного согласия, после чего лечащий врач мог связаться с координатором проекта от Всероссийского общества гемофилии и в назначенное время деперсонифицированные, подготовленные к транспортировке пробы крови передавались курьерской службе и направлялись в лабораторию. Алгоритм функционирования Программы представлен на *рисунке 1*.

Аналитический этап включал количественное определение ристоцетин-кофакторной активности и антигена ФВ и активности VIII фактора свертывания. После завершения аналитического этапа результаты обследования направлялись лечащему врачу. Лечащий врач при необходимости имел возможность для последующей совместной консультации пациента со специалистами НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева по официальному каналу телемедицины (или очной консультации пациента по требованию).

Лабораторная диагностика образцов крови пациентов с подозрением на БВ начиналась со скрининговых исследований, позволяющих исключить иные нарушения тромбоцитарного и плазменного звеньев свертывающей системы крови. Данные тесты выполнялись непосредственно в регионах, позволяя выделить группу пациентов, нуждающихся в дальнейшей диагностике по Программе. В каждую лабораторию/процедурный кабинет, принимающие участие в Программе, были предоставлены памятки с подробным описанием процедуры подготовки пациента, правил взятия образцов крови,

транспортировки, хранения и первичной пробоподготовки образца [11]. Отбор крови выполнялся строго с соблюдением преаналитических правил, указанных в памятке. Кровь пациентов отбиралась путем пункции доступной периферической вены в вакуумные пробирки с 3,2% (0,105–0,110М) раствором цитрата натрия в соотношении 1:9. Объем каждого образца составлял не менее 5 мл. В течение не более 45 мин после взятия образца крови подвергались центрифугированию в режиме 3000 об/мин в течение 15 мин с обязательной отметкой в направлении времени взятия крови и времени начала центрифугирования. В дальнейшем производились отделение плазмы от клеток и перенос во вторичные сухие (без напыления и наполнителя) с обязательной маркировкой криопробирки с винтовыми крышками с последующей немедленной заморозкой при -20°C (-70°C при возможности). Затем пробы передавались курьерской службе для доставки в лабораторию клинического гемостаза НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Доставка осуществлялась в специальном термоконтейнере с датчиком температуры, в качестве хладоэлемента использовался сухой лед. Доставка до лаборатории занимала в среднем 1 сут, в зависимости от удаленности региона. Поступающие пробы регистрировались в консультативном отделении НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, вскрывался термоконтейнер, визуально оценивались состояние проб, маркировка, соответствие направительной документации. В случае отсутствия нарушений пробы регистрировались и передавались в лабораторию для исследования.

В лаборатории хранение замороженных проб осуществлялось в морозильной камере при -70°C в течение 5 рабочих дней. Для проведения исследований образцы размораживались на водяной бане при 37°C в течение 5 мин с последующим немедленным измерением показателей [11].

Антиген ФВ (vWF:Ag, Instrumentation laboratory, USA), ристоцетин-кофакторная активность ФВ (vWF:RCo, Instrumentation laboratory, USA), активность фактора VIII (fVIII deficient plasma, Instrumentation laboratory, USA) определялись на автоматическом коагулометре ACL TOP 700 (Instrumentation laboratory, USA) с использованием стандартных наборов.

Первый тип БВ устанавливался на основании пропорционального снижения vWF:Ag и vWF:RCo менее 30% в соответствии с действующими клиническими рекомендациями с соотношением vWF:RCo/vWF:Ag более 0,7 [2, 12–14]. Второй тип подозревался при снижении отношения активности ФВ к количеству менее 0,7 (подтипы 2А, 2В и 2М) или снижения отношения фактора VIII к антигену ФВ менее 0,7 [2].

Рисунок 1

Алгоритм функционирования Программы по дистанционной диагностике БВ. 🩺 – врач-гематолог; ☎ – координатор Всероссийского общества гемофилии; 📧 – документы для участия в Программе; 🚚 – взятие и подготовка материала для исследования; 🚚 – транспортировка материала; 🏥 – НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева; 📄 – результаты исследования

Figure 1

A flowchart of the vWD remote diagnosis programme. 🩺 – a hematologist; ☎ – a coordinator of the of Russian Hemophilia Society; 📧 – documents required for participation; 🚚 – sample transport; 🚚 – sample transportation; 🏥 – Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology; 📄 – test results



РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего за период с 11.04.2019 по 07.08.2020 в лабораторию клинического гемостаза НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева поступило 72 образца крови пациентов из 21 региона. Характеристика пациентов и полученные результаты представлены в *таблице*.

На основании первого этапа исследования снижение активности ФВ менее 30% было выявлено у 12 (16,7%) пациентов, менее 50%, но более 30% – также у 12 (16,7%) пациентов. Результаты первичного анализа представлены на *рисунке 2*.

Снижение антигена ФВ менее 30% наблюдалось у 7 (9,7%) из 72 обследованных, снижение менее 50%, но более 30% – у 10 (13,9%) детей (*рисунок 3*). На основании расчета соотношения активности и антигена ФВ у 9 пациентов был заподозрен 2-й тип БВ.

Снижение отношения активности VIII фактора свертывания крови к антигену ФВ выявлено у 8 (11,1%) детей (*рисунок 4*), из которых только 2 (2,8%) имели сниженные концентрацию антигена и активность ФВ. Снижение фактора VIII на фоне нормальных значений активности и антигена ФВ наблюдалось у 6 (8,3%) пациентов.

Интересным получилось распределение пациентов по типу БВ: при снижении ФВ менее 30% из 12 пациентов 1-му типу соответствовал 1 (8,3%)

ребенок, 2-му типу – 10 (83,3%), 3-му типу – 1 (8,3%). Если же учитывать снижение ФВ менее 50%, то из 24 пациентов 1-му типу соответствовали 12 (50%) человек, 2-му типу – 10 (41,7%), 3-му типу – 1 (4,3%).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исходя из результатов проведенного анализа, среди 72 образцов, благодаря разработке и предо-

Таблица

Демографические данные и результаты лабораторных тестов проб крови пациентов с подозрением на БВ

Table

The demographic data and blood test results of the patients with suspected von Willebrand disease

№	Пол Sex	Возраст Age	Группа крови Blood type	vWF:Ag	vWf:Rco	vWf:Rco/vWF:Ag	fVIII	fVIII/vWF:Ag
1	м m	14 лет 14 y.o.	B(III)Rh+	23,3	1,6	0,07	45,9	1,97
2	ж f	4 лет 4 y.o.	AB(IV)Rh+	2	3,3	1,65	3,2	1,60
3	м m	15 лет 15 y.o.	O(I)Rh+	16,7	5,3	0,32	18,3	1,10
4	м m	9 лет 9 y.o.	O(I)Rh+	13,2	5,6	0,42	48	3,64
5	м m	6 лет 6 y.o.	A(II)Rh+	43,1	5,9	0,14	45,1	1,05
6	ж f	16 лет 16 y.o.	O(I)Rh+	16,5	6,3	0,38	27,2	1,65
7	м m	15 лет 15 y.o.	O(I)Rh–	35,7	6,9	0,19	101,4	2,84
8	ж f	12 месяцев 12 months	B(III)Rh+	6,1	7,7	1,26	10,4	1,70
9	м m	8 лет 8 y.o.	A(II)Rh+	30,2	15,3	0,51	43,3	1,43
10	м m	5 лет 5 y.o.	O(I)Rh+	34,3	22,3	0,65	55,6	1,62
11	ж f	6 месяцев 6 months	B(III)Rh+	186,8	24,4	0,13	240,8	1,29
12	м m	14 месяцев 14 months	B(III)Rh–	34,1	26,9	0,79	141,8	4,16
13	ж f	4 лет 4 y.o.	O(I)Rh+	32,9	30,2	0,92	37,9	1,15
14	м m	2 лет 2 y.o.	O(I)Rh+	39	30,3	0,78	3,8	0,10
15	ж f	16 лет 16 y.o.	A(II)Rh+	50,1	35,2	0,70	99,9	1,99
16	м m	6 лет 6 y.o.	B(III)Rh–	39,9	38,8	0,97	66,1	1,66
17	м m	14 лет 14 y.o.	A(II)Rh–	54,9	40,3	0,73	92,9	1,69
18	ж f	15 лет 15 y.o.	O(I)Rh+	40,9	41	1,00	74,8	1,83
19	ж f	8 лет 8 y.o.	O(I)Rh+	60,7	42,8	0,71	41,5	0,68
20	ж f	9 лет 9 y.o.	A(II)Rh+	61,4	43,4	0,71	62,6	1,02
21	ж f	9 лет 9 y.o.	O(I)Rh+	39,4	43,5	1,10	52,1	1,32
22	м m	9 лет 9 y.o.	O(I)Rh+	58,5	44,9	0,77	79	1,35
23	м m	11 лет 11 y.o.	O(I)Rh+	67,2	47,4	0,71	58,5	0,87
24	м m	6 лет 6 y.o.	O(I)Rh–	60,4	48,3	0,80	88,2	1,46
25	м m	5 лет 5 y.o.	A(II)Rh+	62	61,8	1,00	8,8	0,14
26	м m	8 лет 8 y.o.	O(I)Rh+	72,2	62,6	0,87	26,5	0,37
27	м m	7 лет 7 y.o.	O(I)Rh+	71,3	74	1,04	8,5	0,12
28	м m	19 месяцев 19 months	A(II)Rh+	106,4	75,2	0,71	7,3	0,07
29	м m	7 лет 7 y.o.	A(II)Rh+	98,8	76,7	0,78	10,1	0,10
30	м m	10 лет 10 y.o.	O(I)Rh+	115,6	95,9	0,83	3	0,03

Примечание. м – мужской; ж – женский.

Note. m – male; f – female; vWF:Ag – von Willebrand factor (vWF) antigen; vWf:Rco – ristocetin cofactor activity; fVIII – coagulation factor VIII.

ставлению в рамках Программы материалов по соблюдению преаналитического этапа взятия крови у пациентов, нарушение пробоподготовки было выявлено всего в 1 (1,4%) образце. Данный образец был гемолизирован, что свидетельствует о нарушении техники взятия крови у пациента либо о нарушении условий центрифугирования, хранения и транспортировки. Выявление ошибки в процессе подготовки образца к транспортировке позволило бы исключить лишние расходы на нее. Безусловно, лабораторные исследования системы гемостаза являются одними из наиболее требовательных к соблюдению преаналитического этапа лабораторной диагностики [15]. Так, для исследования ФВ помимо стандартных требований необходимо учитывать даже такие тонкости, как суточные колебания, группа крови, зависимость от менструального цикла [5, 6, 8]. Задача по соблюдению всех уровней преаналитики ложилась на врачей и специалистов лабораторной диагностики в регионах, с которой удалось успешно справиться.

Благодаря тщательному отбору пациентов для исследования, снижение активности ФВ менее 30% наблюдалось в 16,7% случаев, что гораздо выше по сравнению с результативностью выявления БВ при рутинном скрининге у детей с повышенной кровоточивостью. Действительно, при анализе частоты выявления снижения активности ФВ у детей амбулаторного профиля с жалобами на повышенную кровоточивость, обращавшихся за помощью в консультативное отделение НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева за период с 2017 по 2019 г., активность ФВ менее 50% была выявлена у 12% пациентов, тогда как менее 30% – у 6,3%. По-видимому, столь эффективный показатель выявляемости связан с тщательным отбором пациентов специалистами по месту жительства и относительно высокой дискриминационной способностью предложенной анкеты. С другой стороны, такой подход, по нашему мнению, является потенциальным ограничением проведенного исследования. Учитывая невозможность дистанционной оценки тромбоцитарного звена гемостаза, анкета предусматривала исключение пациентов с тромбоцитопенией в анамнезе, что, в свою очередь, могло потенциально сказаться на выявляемости 2В подтипа БВ, учитывая огромную вариабельность фенотипических проявлений. Группа пациентов с активностью ФВ менее 50%, но более 30% имеют выше риск развития геморрагических проявлений по сравнению с общей популяцией [16]. Стоит учитывать, что однократный скрининг на БВ в некотором проценте случаев также мог дать недостоверный ответ об отсутствии заболевания [6–8]. Особого интереса заслуживает распределение по типам БВ. Несмотря на ограниченные размеры выборки, в текущей работе выявлено относительно большое количество проб, результаты анализа

Рисунок 2

Результаты исследования активности ФВ в рамках Программы. N – нормальные значения активности ФВ

Figure 2
von Willebrand Factor activity assay results in the enrolled patients. N – the results are within the normal range

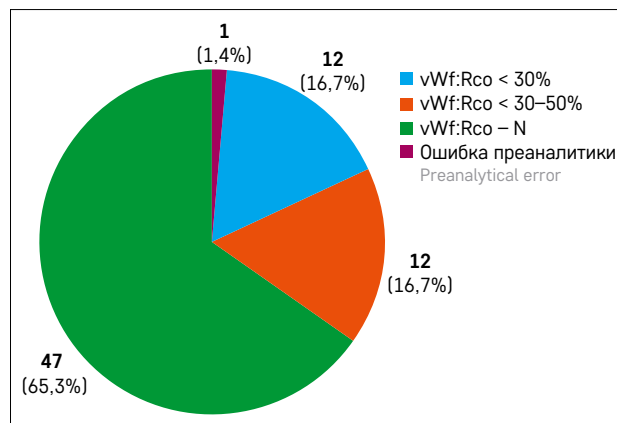


Рисунок 3

Результаты исследования антигена ФВ в рамках Программы. N – нормальные значения антиген ФВ

Figure 3
von Willebrand Factor antigen test results in the enrolled patients. N – the results are within the normal range

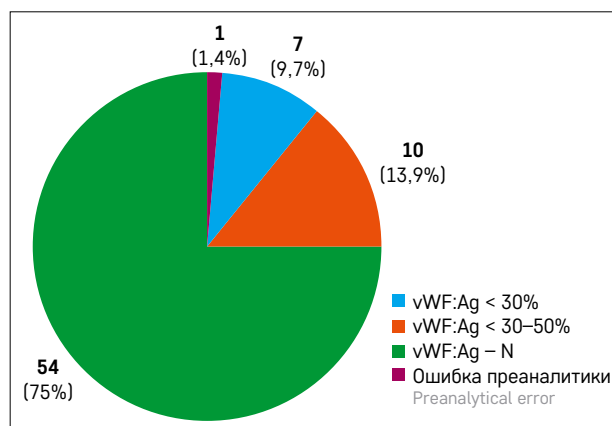
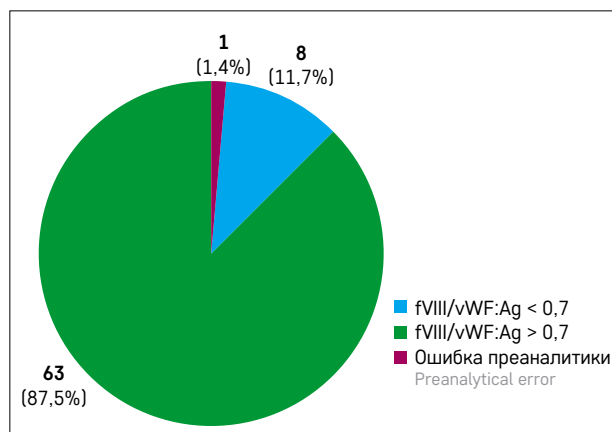


Рисунок 4

Результаты исследования отношения активности фактора VIII к антигену ФВ в рамках Программы

Figure 4
The factor VIII activity/von Willebrand Factor antigen ratio in the enrolled patients



которых соответствуют 2-му типу БВ. Причем чем меньше выборка, тем число пациентов со 2-м типом больше. Это связано, по-видимому, с лучшей выявляемостью более тяжелых форм и более выраженными клиническими проявлениями. Данная особенность наблюдалась нами и ранее, в ходе анализа пациентов амбулаторного профиля. Так, из 59 пациентов с БВ к 1-му типу относились 23 (39%), ко 2-му типу – 31 (52,5%), к 3-му типу – 5 (8,5%). Установление подтипа 2-го типа БВ требует выполнения дополнительной панели тестов, включающей в себя определение коллаген-связывающей активности ФВ, фактор VIII связывающей активности ФВ и мультимерный анализ [2, 12]. К сожалению, данные исследования, равно как и генетическое подтверждение заболевания, не входили в настоящую Программу, однако потенциально могут выполняться на базе лаборатории клинического гемостаза НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Мы считаем, что полноценная лабораторная диагностика БВ с применением расширенного спектра исследований, в том числе оценки мультимерного состава ФВ, может сыграть роль при постановке точного дифференциального диагноза и подборе заместительной терапии. Действительно, в текущем исследовании среди пациентов со сниженной активностью ФВ конкурентный дефицит VIII фактора свертывания был выявлен только у 1 пациента. Однако нами выявлены 6 (8,3%) человек со снижением активности фактора VIII при нормальных значениях антигена и активности ФВ. Такие пациенты нуждаются в дополнительных исследованиях – определении фактор VIII связывающей способности ФВ и генетическом анализе для дифференциальной диагностики с гемофилией А [2]. Также в дополнительных исследованиях нуждаются пациенты с активностью ФВ 30–50% для точного установления диагноза и проведения терапии. В настоящее время для лечения пациентов с БВ доступен высокопурифицированный плазматический концентрат ФВ, в котором соотношение активности фактора VIII к ФВ составляет 1:2,4, что наиболее близко к физиологическому. Важно отметить, что данный концентрат с таким соотношением показал высокую эффективность как при назначении в целях проведения профилактического лечения пациентов [18–25], так и при терапии в режиме «по требованию» [26]. По-видимому, высокая эффективность данного препарата во

многом обусловлена его мультимерным составом с преобладанием высокомолекулярных изоформ [27, 28], которые определяют высокую гемостатическую активность ФВ [26, 27, 29]. Тем не менее необходимо отметить, что при выборе того или иного препарата для лечения целесообразно учитывать индивидуальные особенности ответа на терапию и переносимости лечения [13]. Безусловно, необходимы дальнейшие исследования по выявлению корреляции между эффективностью препарата, его составом и клинико-лабораторной картиной заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из полученных результатов, применение программы дистанционной диагностики БВ имеет большой потенциал, особенно применительно к малонаселенным регионам страны, в которых налаживание региональной диагностики может быть экономически нецелесообразно. Своевременное выявление причин нарушений свертывания крови и постановка точного дифференциального диагноза пациенту гематологического профиля позволяют назначить профилактику или специфическую для конкретного типа заболевания терапию, а значит, избегать различных гемостазиологических осложнений, которые могут возникать у пациентов с коагулопатиями в течение жизни как спонтанно, так и индуцировано, например на фоне травм, оперативных вмешательств или в виде гемостазиологических осложнений течения беременности и осложнений в послеродовом периоде.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Коллектив авторов выражает благодарность президенту Всероссийского общества гемофилии Юрию Александровичу Жулеву и координатору диагностического проекта по болезни Виллебранда Марине Викторовне Дубининой.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Poletaev A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5209-2099>

Seregina E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7534-3863>

Fedorova D.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4567-1871>

Zharkov P.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4384-6754>

Литература

1. Руководство по гематологии в 3 т. Под ред. Воробьева А.И. М.: Ньюдиамед; 2005.
2. Nichols W.L., Hultin M.B., James A.H., Manco-Johnson M.J., Montgomery R.R., Ortel T.L., et al. Von Willebrand disease (VWD): evidence-based diagnosis and management guidelines, the National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) Expert Panel report (USA). *Haemophilia* 2008; 14 (2): 171–232. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2007.01643.x
3. Rodeghiero F., Castaman G., Dini E. Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand's disease. *Blood* 1987; 69 (2): 454–9.
4. Sadler J.E., Mannucci P.M., Berntorp E., Bochkov N., Boulyjenkov V., Ginsburg D., et al. Impact, diagnosis and treatment of von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 2000; 84 (2): 160–74.
5. Sukhu K., Poovalingam V., Mahomed R., Giangrande P.L. Ethnic variation in von Willebrand factor levels can influence the diagnosis of von Willebrand disease. *Clin Lab Haematol* 2003; 25 (4): 247–9. DOI: 10.1046/j.1365-2257.2003.00523.x
6. Timm A., Fahrenkrug J., Jørgensen H.L., Sennels H.P., Goetze J.P. Diurnal variation of von Willebrand factor in plasma: the Bispebjerg study of diurnal variations. *Haematology* 2014; 93 (1): 48–53. DOI: 10.1111/ehj.12298
7. Knol H.M., Kemperman R.F.J., Kluin-Nelemans H.C., Mulder A.B., Meijer K. Haemostatic variables during normal menstrual cycle. A systematic review. *Thrombosis and Haemostasis* 2012; 107 (1): 22–9. DOI: 10.1160/TH11-07-0481
8. Karl C Desch. Regulation of plasma von Willebrand factor. *F1000Res* 2018; 7: 96. DOI: 10.12688/f1000research.13056.1
9. Werner E.J., Broxson E.H., Tucker E.L., Giroux D.S., Shults J., Abshire T.C. Prevalence of von Willebrand disease in children: a multiethnic study. *J Pediatr* 1993; 123 (6): 893–8. DOI: 10.1016/s0022-3476(05)80384-1
10. Андреева Т.А., Климова Н.И., Тарасова И.С., Лаврухин Д.Б., Чернов В.М. Состояние специализированной помощи детям и взрослым с болезнью Виллебранда в РФ (по данным анкетирования главных гематологов). *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2013; 12 (1): 5–12.
11. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; CLSI Approved Guideline. 5th ed. 2008.
12. Oliver S., Lau K.K.E., Chapman K., Favalaro E.J. Laboratory Testing for Von Willebrand Factor Multimers. *Methods Mol Biol* 2017; 1646: 495–511. DOI: 10.1007/978-1-4939-7196-1_36
13. Румянцев А.Г., Масчан А.А., Вдовин В.В., Свирин П.В. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению детей с гемофилией А, гемофилией В и болезнью Виллебранда. 2015.
14. Laffan M.A., Lester W., O'Donnell J.S., Will A., Tait R.C., Goodeve A., et al. The diagnosis and management of von Willebrand disease: a United Kingdom Haemophilia Centre Doctors Organization guideline approved by the British Committee for Standards in Hematology. *Br J Haematol*. 2014; 167 (4): 453–65. DOI: 10.1111/bjh.13064
15. Favalaro E.J., Bonar R.A., Meiring M., Duncan E., Mohammed S., Sioufi J. et al. Evaluating errors in the laboratory identification of von Willebrand disease in the real world. *Thromb Res* 2014; 134 (2): 393–403. DOI: 10.1016/j.thromres.2014.05.020
16. Bykowska K., Ceglarek B. Clinical significance of slightly reduced von Willebrand factor activity. *Pol Arch Intern Med* 2020; 130 (3): 225–31. DOI: 10.20452/pamw.15162
17. Rosenberg J.B., Greengard J.S., Montgomery R.R. Genetic induction of a releasable pool of factor VIII in human endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20 (12): 2689–95. DOI: 10.1161/01.atv.20.12.2689
18. Lillicrap D., Poon M.C., Walker I., Xie F., Schwartz B.A., Association of Hemophilia Clinic Directors of Canada. Efficacy and safety of the factor VIII/von Willebrand factor concentrate, Haemate-P/Humate P: ristocetin cofactor unit dosing in patients with von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 2002; 87 (2): 224–30.
19. Berntorp E., Abshire T., vWD Steering Committee. The von Willebrand disease prophylaxis network (VWD PN): exploring a treatment concept. *Thromb Res* 2006; 118 Suppl 1: S19–22. DOI: 10.1016/j.thromres.2006.01.016
20. Lethagen S. Clinical experience of prophylactic treatment in von Willebrand disease. *Thromb Res* 2006; 118 Suppl 1: S9–11. DOI: 10.1016/j.thromres.2006.01.021
21. Oldenburg J. Prophylaxis in bleeding disorders. *Thromb Res* 2011; 127 Suppl 1: S14–7. DOI: 10.1016/j.thromres.2010.10.005
22. Halimeh S., Krumpel A., Rott H., Bogdanova N., Budde U., Manner D., et al. Long-term secondary prophylaxis in children, adolescents and young adults with von Willebrand disease. Results of a cohort study. *Thromb Haemost* 2011; 105 (4): 597–604. DOI: 10.1160/TH10-09-0616
23. Abshire T.C., Federici A.B., Álvarez M.T., Bowen J., Carcao M.D., Cox Gill J., et al. Prophylaxis in severe forms of von Willebrand's disease: results from the von Willebrand Disease Prophylaxis Network (VWD PN). *Haemophilia* 2013; 19 (1): 76–81. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2012.02916.x
24. Federici A., James P. Current management of patients with severe von Willebrand disease type 3: a 2012 update. *Acta Haematologica* 2012; 128 (2): 88–99. doi: 10.1159/000338208
25. Miesbach W., Krekler S., Wolf Z., Seifried E. Clinical use of Haemate® P in von Willebrand disease: a 25-year retrospective observational study. *Thromb Res* 2015; 135 (3): 479–84. DOI: 10.1016/j.thromres.2014.12.017
26. Federici A., Castaman G., Franchini M., Morfini M., Zanon E., Coppola A., et al. Clinical use of Haemate P in inherited von Willebrand's disease: a cohort study on 100 Italian patients. *Haematologica* 2007; 92 (7): 944–51. DOI: 10.3324/haematol.11124
27. Budde U., Metzner H.J., Muller H.-G. Comparative Analysis and Classification of von Willebrand Factor/Factor VIII Concentrates: Impact on Treatment of Patients with von Willebrand Disease. *Semin Thromb Hemost* 2006; 32 (6): 626–35. DOI: 10.1055/s-2006-949668
28. Metzner H.J., Hermetin P., Cuesta-Linker T., Langner S., Mueller H.G., Friedebold J. Characterization of factor VIII/von Willebrand factor concentrates using a modified method of von Willebrand factor multimer analysis. *Haemophilia* 1998; 4 Suppl 3: 25–32. DOI: 10.1046/j.1365-2516.1998.0040s3025.x
29. Kouides P., Wawra-Hehenberger K., Sajan A., Mead H., Simon T. Safety of a pasteurized plasma-derived Factor VIII and von Willebrand factor concentrate: analysis of 33 years of pharmacovigilance data. *Transfusion* 2017; 57 (10): 2390–403. DOI: 10.1111/trf.14241

Для заместительной терапии комплексом фактора Виллебранда и фактора VIII

ДОКАЗАННАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

- **Высокая эффективность терапии:** 95-100% при всех типах БВ³
- **Высокое содержание высокомолекулярных мультимеров vWF:** 94%¹ особенно важно для пациентов с БВ типа 2А и 2В
- **Высокая концентрация vWF:** соотношение vWF:FVIII составляет 2,4:1² особенно важно при тяжелых формах БВ
- **Высокие показатели безопасности применения:** ни одного подтвержденного случая передачи вирусов или прионов⁴
- **Долгосрочная профилактика БВ препаратом Гемате® П** является оправданной у большинства пациентов^{*,3,5}



vWF – фактор Виллебранда

FVIII – фактор свертывания крови VIII

*с БВ 3 типа, 2А и 2В типов, а также у пациентов с тяжелыми формами БВ 1 типа

Эффективная защита от кровотечений для пациентов с болезнью Виллебранда

КРАТКАЯ ИНФОРМАЦИЯ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ ПРЕПАРАТА ГЕМАТЕ® П

Международное непатентованное или группировочное наименование: фактор свертывания крови VIII + фактор Виллебранда. **Лекарственная форма:** лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения.

Состав

1 флакон с лиофилизатом содержит:

Действующие вещества

Фактор свертывания крови VIII	200-300 (250) ME	400-600 (500) ME	810-1200 (1000) ME
Фактор Виллебранда	360-840 (600) ME	720-1680 (1200) ME	1440-3360 (2400) ME

Показания к применению. Профилактика и лечение кровотечений, а также кровопотеря во время операций у пациентов с болезнью Виллебранда, если монотерапия десмопрессинном неэффективна или противопоказана. Лечение и профилактика кровотечений у пациентов с гемофилией А (врожденный

дефицит фактора свертывания крови VIII). Может использоваться для лечения и профилактики кровотечений у пациентов с приобретенным дефицитом фактора свертывания крови VIII и у пациентов с наличием антител к фактору свертывания крови VIII. **Форма выпуска.** Леофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения 250 ME + 600 ME, 500 ME + 1200 ME или 1000 ME + 2400 ME. По 1 флакону с лиофилизатом, 1 флакону с растворителем и 1 устройству для добавления растворителя с фильтром («Mix2Vial™ 20/20») с инструкцией по применению в картонную пачку. Дополнительно прилагается комплект для внутривенного введения препарата. **Условия хранения.** При температуре не выше 25 °С в защищенном от света месте. Не замораживать. Хранить в недоступном для детей месте. **Срок годности:** 3 года. Не применять после истечения срока годности, указанного на упаковке. **ПОЖАЛУЙСТА, ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ГЕМАТЕ® П* ПЕРЕД ЕГО НАЗНАЧЕНИЕМ.**

Список литературы: 1. Humate-P [Prescribing Information]. Kankakee, IL: CSL Behring LLC. 2. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Гемате® П от 26.11.2019 г. Регистрационный номер: ЛП-000596. 3. Lillicrap D et al. *Thromb Haemost.* 2002;87(2):224-230. 4. Miesbach W et al. *Thrombosis Research* 2015;135:479-484. 5. Berntorp E. *Semin Thromb Hemost* 2006; 32:621-625. 6. Ettingshausen C.E., Kreuz W. *Haemophilia* 2014; 20: 333-339.

Филиал ООО «Си Эс Эл Беринг Биотэрапис ГмБХ»
125167, г. Москва, Ленинградский проспект, д. 39, стр. 80
Эл. почта: inforussia@csllbehring.com
Тел.: +7 (495) 788-52-89

Biotherapies for Life™

CSL Behring

реклама. 6+

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 24.06.2020
Принята к печати 06.07.2020

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-62-72

Гематологические проявления X-сцепленных лимфопролиферативных синдромов 1-го и 2-го типов

А.А. Роппельт¹, А.Л. Лаберко¹, В.И. Бурлаков¹, Н.Ю. Кан¹, Ю.А. Родина¹, Д.В. Юхачева¹, Е.А. Викторова¹, О.С. Селезнева², Д.Е. Першин¹, В.А. Ведмедская¹, Е.В. Райкина¹, Т.В. Варламова¹, А.М. Киева¹, С.Г. Манн¹, А.В. Поляков³, И.Г. Сермягина³, У.Н. Петрова¹, И.И. Калинина¹, Л.Н. Шелихова¹, Д.Н. Балашов¹, И.В. Кондратенко⁴, А.А. Масчан¹, А.Ю. Щербина¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

²ФГБУ РО «Областная детская клиническая больница», Ростов-на-Дону

³ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова», Москва

⁴Обособленное структурное подразделение Российской детской клинической больницы ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Контактная информация:

Роппельт Анна Артуровна,
врач отделения клинической иммунологии
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия
Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: roppelt_anna@mail.ru

X-сцепленный лимфопролиферативный синдром 1-го (ХЛП1) и 2-го (ХЛП2) типов – это первичные иммунодефициты, объединенные в одну группу в связи с аномальным ответом на вирус Эпштейна–Барр. Частым жизнеугрожающим осложнением при обоих заболеваниях является развитие гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза (ГЛГ). В основе ХЛП1 и ХЛП2 лежат мутации в генах *SH2D1A* и *XIAP* соответственно. Нами приведена характеристика таких гематологических осложнений, как ГЛГ и цитопения, у 12 пациентов с ХЛП1 и 11 больных с ХЛП2. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Проведен анализ пациентов, которые наблюдались или были консультированы в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева с 2012 г. и в РДКБ ФГАОУ ВО «РНМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России с 2003 г. до февраля 2020 г. Всего в исследование вошли 19 пациентов с ХЛП1 из 13 семей и 16 пациентов с ХЛП2 из 14 семей. Пациентам с гематологическими осложнениями диагноз ХЛП был поставлен на основании критериев ESID и в 19 случаях подтвержден выявлением мутации в гене *SH2D1A* или *XIAP* (8 пациентов с ХЛП1 и 11 пациентов с ХЛП2). Исследование внутриклеточной экспрессии соответствующих белков SAP и XIAP проводилось путем внутриклеточной окраски SAP/XIAP в лимфоцитах. Молекулярно-генетическое исследование для выявления мутаций в генах *SH2D1A* и *XIAP* проводилось методом прямого секвенирования по Сэнгеру на приборе Genetic Analyzer 3130x1 (Applied Biosystems, США) согласно протоколу производителя, методом мультиплексной амплификации лигазно-связанных проб с использованием набора SALSA MLPA Probemix P205 SH2D1A-XIAP-ITK (MRC-Holland, Нидерланды) или методом секвенирования нового поколения (NGS) на платформе NextSeq (Illumina) методом парно-концевого чтения. Среди пациентов с гематологическими осложнениями цитопения различной степени выраженности наблюдалась у 4 человек с ХЛП1 и у 2 – с ХЛП2. Ни у одного из пациентов с цитопенией при ХЛП1 не развился ГЛГ, тогда как у всех пациентов с ХЛП2 цитопения предшествовала полноценной форме ГЛГ. ГЛГ развился у 8 пациентов с ХЛП1 и 11 больных с ХЛП2. ГЛГ-ассоциированная смертность до трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) составила 75% в группе пациентов с ХЛП1 и 0% в группе больных с ХЛП2. Ремиссия ГЛГ достигнута в 12,5% случаев при ХЛП1 и в 82% – при ХЛП2. В представленной группе пациентов с ХЛП1 и гематологическими осложнениями ТГСК выполнена только 3 пациентам с ХЛП1, что не позволяет провести статистический анализ, и 9 пациентам с ХЛП2 с общей выживаемостью 74%. ГЛГ – самое частое гематологическое осложнение ХЛП1 и ХЛП2. Фульминантное течение ГЛГ при ХЛП1 оправдывает проведение агрессивной терапии в кратчайшие сроки. Для пациентов с ХЛП2 продемонстрирована ремиссия ГЛГ на фоне моно- или двухкомпонентной иммуносупрессивной терапии, что является важным подспорьем в редукции токсичной терапии и при использовании таргетной терапии. Цитопения при ХЛП2 может быть предшественником ГЛГ, тогда как в основе цитопении при ХЛП1 лежат, вероятно, другие иммунные механизмы. Для пациентов с ХЛП1 ТГСК является куративной опцией, к которой следует прибегать как можно раньше после постановки диагноза.

Ключевые слова: первичный иммунодефицит, X-сцепленный лимфопролиферативный синдром, ген *SH2D1A*, ген *XIAP*, гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз, цитопения, аплазия кроветворения

Роппельт А.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 62–72.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-62-72

Haematological complications of X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 and 2

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPhOI»

Received 24.06.2020

Accepted 06.07.2020

A.A. Roppelt¹, A.L. Laberko¹, V.I. Burlakov¹, N.Yu. Kan¹, Yu.A. Rodina¹, D.V. Yukhacheva¹, E.A. Viktorova¹, O.S. Selezneva², D.E. Pershin¹, V.A. Vedmedskaya¹, E.V. Raykina¹, T.V. Varlamova¹, A.M. Kieva¹, S.G. Mann¹, A.V. Polyakov³, I.G. Sermyagina³, U.N. Petrova¹, I.I. Kalinina¹, L.N. Shelikhova¹, D.N. Balashov¹, I.V. Kondratenko⁴, A.A. Maschan¹, A.Yu. Shcherbina¹

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

²Regional Clinical Children's Hospital, Rostov-on-Don

³Research Centre for Medical Genetics, Moscow

⁴Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 (XLP1) and 2 (XLP2) are primary immunodeficiencies (PID), combined in one group because of shared abnormal response to Epstein-Barr virus (EBV) and caused by mutations in *SH2D1A* and *XIAP* genes, respectively. Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) is a frequent life-threatening complication of both diseases. We analyzed haematological complications, such as HLH and cytopenia, in 12 patients with XLP1 and 11 – with XLP2. The research was approved by Independent ethic committee and the academic board of Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia). Analyzed were patients who were treated or consulted in Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia) since 2012 and in Russian Clinical Children's Hospital (Moscow, Russia) since 2003 to February 2020. 19 XLP1 patients from 13 families and 16 XLP2 patients from 14 families were included. For patients with haematological complications XLP diagnosis was based on the ESID criteria and genetically confirmed in 19 cases by detecting mutations in *SH2D1A* or *XIAP* gene (8 XLP1 and 11 XLP2 patients). Intracellular expression of corresponding SAP and XIAP proteins was performed by intracellular staining of SAP/XIAP in lymphocytes. Genetic analysis to detect mutations in *SH2D1A* and *XIAP* genes was performed by the Sanger sequencing method on Genetic Analyzer 3130x1 (Applied Biosystems, USA) according to the manufacturer protocol, or by the Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification method using SALSA MLPA Probemix P205 SH2D1A-XIAP-ITK (MRC-Holland, the Netherlands), or by the next-generation sequencing (NGS) method on NextSeq (Illumina) platform using a paired end tag (PET) sequencing method. Varying degree of cytopenia was present in 4 patients with XLP1 and 2 – with XLP2. None of XLP1 patients with cytopenia, and all XLP2 patients with cytopenia subsequently developed full HLH. Overall 8 XLP1 and 11 XLP2 patients developed HLH. HLH-associated mortality before hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) was 75% in a group of XLP1 patients and 0% – in XLP2. HSCT was performed in 3 XLP1 patients, which was not sufficient for survival analysis and in 9 XLP2 patients, in whom overall survival was 74%. HLH is the most often haematological complication of XLP1 and XLP2. Fulminant HLH in XLP1 requires early and aggressive treatment. In XLP2 patients HLH remission can be reached on mono- or bicomponent immunosuppressive therapy which allows to reduce therapy-associated toxicity. In XLP2 patients cytopenia can precede HLH, while in XLP1 patients cytopenia is probably caused by other mechanisms. HSCT is a curative treatment for XLP1 and 2 which should be considered as soon as the diagnosis is made.

Key words: primary immunodeficiency, X-linked lymphoproliferative syndrome, *SH2D1A* gene, *XIAP* gene, hemophagocytic lymphohistiocytosis, cytopenia, aplastic anemia

Roppelt A.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 62–72.

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-62-72

Х-сцепленный лимфопролиферативный синдром 1-го (ХЛП1) и 2-го (ХЛП2) типов – это первичные иммунодефициты (ПИД), объединенные в одну группу в связи с аномальным ответом на вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ). Частым жизнеугрожающим осложнением при обоих заболеваниях является развитие гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза (ГЛГ) [1, 2]. В основе ХЛП1 и ХЛП2 лежат мутации в генах *SH2D1A* и *XIAP* соответственно, расположенные на X-хромосоме [3, 4]. Помимо ГЛГ для пациентов с ХЛП1 характерны дисгаммаглобулинемия, высокая частота лимфом и развитие аутоиммунных/аутовоспалительных осложнений, встречающихся, по данным С. Booth и соавт., с частотой 50%, 25% и 15% соответственно [5]. Для пациентов с ХЛП2 частыми симптомами являются гипогаммаглобулинемия, воспалительное заболевание кишечника и другие аутовоспалительные проявления, описанные с частотой 16%, 26% и 7% соответственно [6].

Гематологические нарушения занимают важное место среди проявлений ХЛП. Наиболее грозным и изученным среди них является ГЛГ [7], однако для данных ПИД характерны и цитопении, не входящие в симптомокомплекс ГЛГ.

Следует отметить, что в оригинальном описании первых пациентов с ХЛП1 термин «лимфопролиферативное заболевание» был использован не только для доброкачественной или злокачественной лимфопролиферации, но и для описания диффузной инфильтрации органов лимфоцитами, плазматическими клетками и гистиоцитами, что соответствует гистологической картине при ГЛГ [8]. Действительно, ГЛГ является одним из самых частых проявлений ХЛП1, встречаясь у 45% пациентов в течение жизни, примерно пятая часть которых изначально трактуется как фульминантный инфекционный мононуклеоз [5]. ГЛГ по-прежнему остается основной причиной смерти пациентов с ХЛП1 [9].

Угнетение гемопоэза, не связанное с ГЛГ (от парциальной красноклеточной аплазии до панцитопении), было впервые описано Т. Seemaueg и соавт. у 8 пациентов из 272 человек с фенотипом ВЭБ-ассоциированной лимфопролиферации, что на тот момент трактовалось как единственно известный ХЛП1 [2]. Однако следует отметить, что ни у одного пациента не проводилось молекулярно-генетическое исследование, поэтому достоверно говорить о наличии у них ХЛП1 нельзя. Позже С. Booth и соавт. описали угне-

Correspondence:

Anna A. Roppelt, Doctor in the Department of Clinical Immunology, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation Address: Russia, 117997, Moscow, Samoy Mashela st., 1 E-mail: roppelt_anna@mail.ru

тение гемопоэза у 3 из 91 пациента, а Y. Jin и соавт. – у 1 из 5 больных с мутацией в гене *SH2D1A* [5, 10]. Патогенез аплазии, не ассоциированной с ГЛГ, при ХЛП1 не ясен, хотя нельзя исключить в нем роль ВЭБ. Так, описаны случаи обнаружения ВЭБ в костном мозге пациентов с апластической анемией, не ассоциированной с ХЛП1 [11].

Согласно данным, собранным С. Aguilar и S. Latour, частота ГЛГ при ХЛП2 составляет 54% [6]. ГЛГ при ХЛП2 может иметь фульминантное течение, однако зачастую протекает менее агрессивно и носит транзиторный и рецидивирующий характер, чем отличается от ГЛГ при ХЛП1, для которого больше свойственен единственный и летальный эпизод ГЛГ. Так, ГЛГ-ассоциированная смертность пациентов с ХЛП1 и ХЛП2 может достигать 61% и 23% соответственно [12]. Случаи неполного ГЛГ могут быть самоограничивающимися и не требовать специфического лечения, проявляясь периодической лихорадкой и умеренной цитопенией. Самым частым симптомом ХЛП2 является спленомегалия, встречающаяся в 57% случаев, в том числе в отсутствии полной формы ГЛГ и, вероятно, также представляет собой неполную его форму [13].

Данная работа выполнена в целях анализа гематологических осложнений у пациентов с ХЛП1 и ХЛП2 и подходов к их лечению.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование одобрено независимым этическим комитетом (протокол №2э/9-19 от 02.04.2019) и утверждено решением ученого совета (протокол №4 от 28.05.2019) ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В статье представлены данные пациентов, которые наблюдались или были консультированы в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева с 2012 г. и в РДКБ ФГАОУ ВО «РНМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России с 2003 г. до февраля 2020 г. Всего в исследование вошли 19 пациентов с ХЛП1 из 13 семей и 16 человек с ХЛП2 из 14 семей. Клиническая картина заболевания у данных пациентов представлена широким спектром осложнений: лимфома, дисгаммаглобулинемия, дерматит, васкулит, воспалительное заболевание кишечника, артрит. К пациентам с гематологическими осложнениями отнесены те, у которых были ГЛГ или цитопения хотя бы по одному росту кроветворения. Гематологические осложнения наблюдались у 12 из 19 пациентов с ХЛП1 и у 11 из 16 человек с ХЛП2, составляя частоту 63% и 69% соответственно (таблица 1). Пациенты s2.1 и s2.2, s3.1 и s3.2, s4.1 и s4.2, s6.1 и s6.2 – родные братья, пациенты x2.1 и x2.2 – двоюродные братья по материнской линии. Пациентам с гематологическими осложнениями диагноз ХЛП был поставлен на осно-

вании критериев ESID [14] и в 19 случаях подтвержден выявлением мутации в гене *SH2D1A* или *XIAP* (8 пациентов с ХЛП1 и 11 пациентов с ХЛП2). Пациентам s2.2, s3.1, s3.2, s6.1 диагноз поставлен на основании клинической картины ХЛП1 и наличия мутации в гене *SH2D1A* у сиблинга с клинической картиной ХЛП1. Исследование внутриклеточной экспрессии соответствующих белков SAP и XIAP проводилось 4 пациентам с ХЛП1 (s1, s4.2, s5, s8) и 7 – с ХЛП2 (x2.2, x5, x6, x7, x8, x9, x10). У всех экспрессия соответствующего белка была резко снижена или отсутствовала вовсе.

Молекулярно-генетическое исследование для выявления мутаций в генах *SH2D1A* и *XIAP* проводилось методом прямого секвенирования по Сэнгеру на приборе Genetic Analyzer 3130x1 (Applied Biosystems, США) согласно протоколу производителя. У пациентов s8 и x10 мутации в генах *SH2D1A* и *XIAP* соответственно найдены методом мультиплексной амплификации лигазно-связанных проб с использованием набора SALSA MLPA Probemix P205 SH2D1A-XIAP-ITK (MRC-Holland, Нидерланды). У пациента s4.2 мутация в гене *SH2D1A* была выявлена методом секвенирования нового поколения (NGS) на платформе NextSeq (Illumina) методом парно-концевого чтения. Для пробоподготовки была использована методика селективного захвата участков ДНК, относящихся к кодирующим областям 4805 генов с известным клиническим значением. Поиск мутации в гене *SH2D1A* у пациентов s6.2 и s7 проводился в лаборатории ДНК-диагностики Медико-генетического научного центра им. акад. Н.П. Бочкова. Исследование проводилось методом прямого секвенирования по Сэнгеру с использованием набора для секвенирования и протокола фирмы производителя на приборе ABIPrism 3100 (Applied Biosystems).

Экспрессия белков SAP и XIAP исследовалась путем внутриклеточной окраски SAP/XIAP в лимфоцитах. После фиксации и пермеабиллизации клеток окраску проводили цитоплазматическими антителами Mouse monoclonal anti-human SH2D1A antibody IgG2a pure (Abnova, clone 1C9) или Mouse monoclonal anti-human XIAP antibody IgG1 pure (BD, clone 48/hILP/XIAP). В качестве вторичных антител выступали Rat Anti-Mouse IgG2a FITC (BD, clone R19-15) или Rat anti-Mouse IgG1 PE (eBioscience, clone M1-14D12) соответственно. Далее инкубировали образцы с мембранными антителами: mouse anti-human IgG2b CD56 APC (BD, clone NCAM16.2) и mouse anti-human IgG1 CD3 PerCP (BD, SK 7). Анализ образцов производили на проточном цитометре FACS Canto II (Becton Dickinson).

Диагноз ГЛГ ставился на основании критериев HLH-2004 [15, 16].

Таблица 1
Характеристика пациентов с ХЛП1 и ХЛП2

Table 1
Characteristics of patients with XLP1 and XLP2

Пациент Patients	Мутация в гене <i>SH2D1A</i> Mutation in <i>SH2D1A</i> gene	Мутация в гене <i>XIAP</i> Mutation in <i>XIAP</i> gene	ГЛГ (возраст манифестации, годы) HLH (manifestation age, years)	Цитопения Cytopenia		Аплазия кроветворения (возраст, годы) Hemopoiesis aplasia (age, years)	ТГСК (возраст, годы) HSCT (age, years)	Текущий статус (возраст, годы) Current status (age, years)	Причина смерти Death cause
				количество пораженных ростков the number of affected lines	возраст первых проявлений, годы age of the first symptoms, years				
s1	c.162C>A, p.Tyr54*		7,7				Нет No	Умер (7,8) Died (7.8)	Прогрессия ГЛГ HLH progression
s2.1	c.296A>C, p.Gln99Pro		11,5 (ИМ → ГЛГ) (IM → HLH)				Нет No	Умер (11,5) Died (11.5)	Прогрессия ГЛГ HLH progression
s2.2*	c.296A>C, p.Gln99Pro		1,7				Нет No	Умер (1,8) Died (1.8)	Прогрессия ГЛГ HLH progression
s3.1*	c.287dupT, p.Pro97Thrfs*7		1,25 (ИМ → ГЛГ) (IM → HLH)				Нет No	Умер (1,25) Died (1.25)	Прогрессия ГЛГ HLH progression
s3.2*	c.287dupT, p.Pro97Thrfs*7		0,8 (ИМ → ГЛГ) (IM → HLH)				Нет No	Умер (0,8) Died (0.8)	Прогрессия ГЛГ HLH progression
s4.1**	c.160T>A, p.Tyr54Asn			2	5,0		Нет No	Умер (8,6) Died (8.6)	Разрыв аневризмы Aneurysm rupture
s4.2**	c.160T>A, p.Tyr54Asn			3	0	Да (12,5) Yes (12.5)	Да (17,4) Yes (17.4)	Жив (20,0) Alive (20.0)	
s5**	c.245dupA, p.Asn82Lysfs*22			3	1,0		Нет No	Жив (7,0) Alive (7.0)	
s6.1*	c.164G>T, p.Arg55Leu		2,1 (ИМ → ГЛГ) (IM → HLH)				Нет No	Умер (2,2) Died (2.2)	Прогрессия ГЛГ HLH progression
s6.2	c.164G>T, p.Arg55Leu		2,1 (ИМ → ГЛГ) (IM → HLH)				Да (2,25) Yes (2.25)	Жив (11,8) Alive (11.8)	
s7	c.163C>T, p.Arg55*		7,0 (ИМ → ГЛГ) (IM → HLH)				Да (9,9) Yes (9.9)	Умер (9,9) Died (9.9)	Кровоизлияние в головной мозг и легкие Brain and lung hemorrhage
s8**	del.ex.1			2	11,6		Нет No	Жив (13,1) Alive (13.1)	
x1		del. ex.4-5	1,25				Да (1,3) Yes (1.3)	Умер (1,4) Died (1.4)	Полиорганная недостаточность Multiple organ failure
x2.1		del. ex.4-5	0,1				Да (12,0) Yes (12.0)	Жив (16,0) Alive (16.0)	
x2.2		del. ex.4-5	0,1				Да (0,45) Yes (0.45)	Жив (1,8) Alive (1.8)	
x3		c.651G>A, p.Trp217*	4,4				Да (4,75) Yes (4.75)	Умер (5,4) Died (5.4)	Полиорганная недостаточность Multiple organ failure
x4		c.421_422delTT, p.Leu141Gluufs*21	0,7 (ИМ → ГЛГ) (IM → HLH)				Нет No	Умер (1,3) Died (1.3)	Сепсис Sepsis
x5		c.664C>T, p.Arg222*	3,4 (ИМ → ГЛГ) (IM → HLH)				Нет No	Жив (6,8) Alive (6.8)	
x6		c.1391delC, p.Pro464Leufs*5	5,9	2	5,75		Да (6,2) Yes (6.2)	Жив (8,6) Alive (8.6)	
x7		c.599G>A, p.Cys200Tyr	2,0				Да (2,5) Yes (2.5)	Жив (4,0) Alive (4.0)	
x8		c.389_392delACAG	0,2				Да (0,5) Yes (0.5)	Жив (1,7) Alive (1.7)	
x9		c.1027_1030delCATT, p.His343*	0,5	3	0		Да (0,75) Yes (0.75)	Жив (0,8) Alive (0.8)	
x10		del. ex.2-5	0,4				Да (0,75) Yes (0.75)	Жив (0,8) Alive (0.8)	

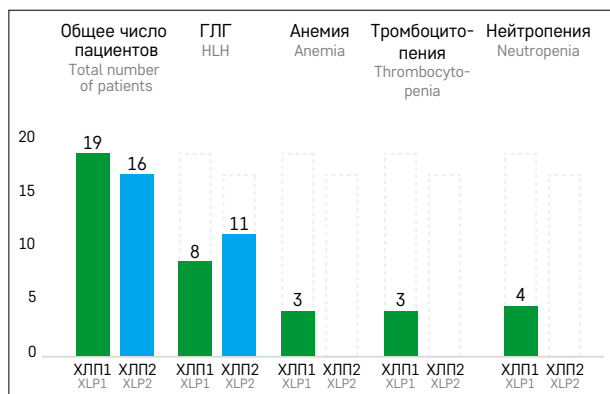
Примечание. s – пациенты с ХЛП1; x – пациенты с ХЛП2; * – у данных пациентов мутацию не выявляли, представленная мутация обнаружена у сиблингов с клиникой ХЛП; ** – у данных пациентов ГЛГ не развился; ИМ → ГЛГ – инфекционный мононуклеоз, перешедший в ГЛГ.
Note. XLP1 – X-linked lymphoproliferative syndrome type 1; XLP2 – X-linked lymphoproliferative syndrome type 2; HLH – hemophagocytic lymphohistiocytosis; HSCT – hematopoietic stem cell transplantation; s – patients with XLP1, x – patients with XLP2; * – the mutation was not investigated in these patients, demonstrated mutations were found in their siblings with XLP; ** – patients didn't develop HLH; IM → HLH – infectious mononucleosis followed by HLH.

Рисунок 1

Спектр гематологических проявлений у пациентов с ХЛП1 и ХЛП2

Figure 1

Variety of haematological complications in XLP1 and XLP2 patients



Виремия при ГЛГ устанавливалась по наличию вируса в крови, найденного методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в момент манифестации ГЛГ.

ВЗБ-статус пациента при ГЛГ считался положительным, если к моменту его манифестации, согласно имеющейся медицинской документации, ВЗБ был обнаружен методом ПЦР в какой-либо из биологических сред и тканей пациента.

Статистическая обработка результатов выполнялась с использованием программного обеспечения XLSTAT, Addinsoft (2019). Вероятность общей выживаемости (ОВ) оценивалась по методу Каплана–Майера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика цитопений и их лечение

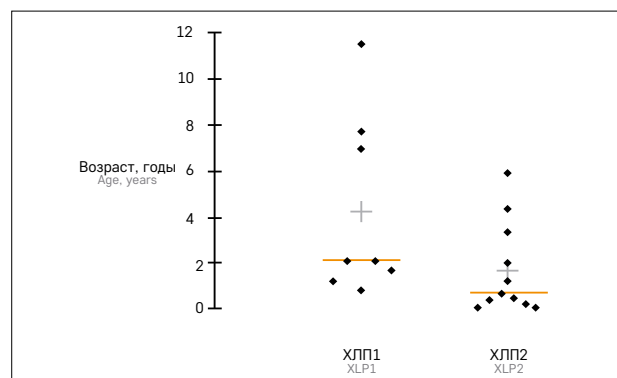
В анализируемой группе пациентов с ХЛП цитопения различного вида и степени выраженности наблюдалась у 4 (21%) из 19 пациентов с ХЛП1 и 2 (12,5%) из 16 человек с ХЛП2. Среди пациентов с ХЛП1 комбинация анемии и нейтропении встречалась у 1 пациента, тромбоцитопении и нейтропении – также у 1, трехростковая цитопения – у 2 больных. У 1 пациента (s4.2) цитопения со временем усугубилась с развитием глубокой аплазии кроветворения по всем росткам. В группе пациентов с ХЛП2 у одного пациента наблюдалось сочетание тромбоцитопении и нейтропении, у другого – трехростковая цитопения. Возраст появления цитопении при ХЛП1 варьировал от момента рождения до 11,6 года (медиана 3 года), при ХЛП2 цитопения была диагностирована у одного пациента с рождения, у другого – в возрасте 5,75 года. Период наблюдения составил для этих пациентов с ХЛП1 1,4–17,4 года (медиана 4,75 года), с ХЛП2 – 6 и 2 месяца соответственно. За этот период ни у одного из пациентов с цитопенией на фоне ХЛП1 не развился ГЛГ, тогда как оба пациента с ХЛП2 развернули полноценную картину ГЛГ (рисунки 1).

Рисунок 2

Возраст манифестации ГЛГ при ХЛП1 и ХЛП2. Горизонтальная черта – медиана. Крестик – среднее значение

Figure 2

HLH manifestation age in XLP1 and XLP2. Horizontal line – median. cross – mean



Терапия цитопении при ХЛП зависела от степени ее выраженности. Из 4 больных с ХЛП1 2 (s5, s8) регулярная специфическая терапия не проводилась. Два пациента (s4.1, s4.2) получали иммуносупрессивную терапию стероидами (2/2) и микофенолата мофетиллом (1/2), а также стимуляцию гранулоцитопоза препаратами гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (2/2). По мере отмены иммуносупрессивной терапии цитопения у пациента s4.2 рецидивировала с прогрессией до аплазии кроветворения по всем росткам, картины гипопластического костного мозга (таблица 2, пациент s4.2a) с признаками трехросткового диспоза и миелофиброза по данным трепанобиопсии. Данному пациенту проводилась комплексная иммуносупрессивная терапия высокими дозами стероидов, циклоsporином, циклофосфаном с последующим длительным приемом низких доз преднизолона, на фоне чего в течение 2 лет гемопоэз был восстановлен (таблица 2, пациент s4.2b).

Терапия цитопении у пациентов с ХЛП2 включала препараты гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (x6) и короткие курсы стероидов (x9). Ни у одного из данных пациентов течение заболевания не удовлетворяло критериям ГЛГ на момент диагностики цитопении, однако следует отметить периодические подъемы температуры и умеренную гепатоспленомегалию у пациента x6, что могло отражать характерную для ХЛП2 неполную форму ГЛГ. По мере развития полноценной картины ГЛГ обоим пациентам была инициирована комбинированная иммуносупрессивная терапия.

Характеристика гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза

Основное заболевание осложнилось развитием ГЛГ у 8 (42%) из 19 пациентов с ХЛП1 и у 11 (69%) из 16 больных с ХЛП2. Из них у 6 пациентов с ХЛП1 и у 2 больных с ХЛП2 процесс начинался с четкими

Таблица 2
Морфологическое исследование костного мозга пациента s4.2 с ХЛП1 и цитопенией

Table 2
Bone marrow morphology of patient s4.2 with XLP1 and cytopenia

Клеточные элементы Cells	s4.2a, %	s4.2b, %
Недифференцированные бластные клетки Undifferentiated blast cells	–	0,7
Миелобласты Myeloblasts	–	–
Промиелоциты Promyelocytes	–	0,7
Миелоциты Myelocytes	–	8,7
Метамиелоциты Metamyelocytes	–	3,3
Палочкоядерные нейтрофилы Band neutrophils	–	4,0
Сегментоядерные нейтрофилы Segmented neutrophils	–	22,7
Сумма нейтрофилов Total neutrophils count	–	39,3
Эозинофильные миелоциты Eosinophilic myelocytes	–	–
Эозинофильные метамиелоциты Eosinophilic metamyelocytes	–	–
Палочкоядерные эозинофилы Band eosinophils	–	–
Сегментоядерные эозинофилы Segmented eosinophils	–	4,7
Сумма эозинофилов Total eosinophils count	–	4,7
Базофилы Basophils	–	–
Промонциты Promonocytes	–	–
Моноциты Monocytes	4,0	6,0
Сумма моноцитов Total monocytes count	4,0	6,0
Лимфоциты Lymphocytes	96,0	30,0
Плазматические клетки Plasma cells	–	–
Эритробласты (пронормобласты) Erythroblasts (pronormoblasts)	–	0,7
Нормобласты базофильные Basophilic normoblasts	–	0,7
Нормобласты полихроматофильные Polychromatophilic normoblasts	–	14,7
Нормобласты оксифильные Oxyphilic normoblasts	–	3,3
Сумма эритрокариоцитов Total erythrocytes count	–	19,3
Индекс созревания нейтрофилов Neutrophil maturation index	–	0,48
Лейкоэритробластическое соотношение Leycoerythroblastic ratio	–	4,14

Примечание. s4.2a и s4.2b – морфологическая картина костного мозга пациента s4.2 на момент аплазии костного мозга и спустя 2 года после аплазии соответственно.

Note. s4.2a and s4.2b – bone marrow morphology of the patient s4.2 at the moment of hemopoiesis aplasia and in 2 years after hemopoiesis aplasia respectively.

клиническими проявлениями инфекционного мононуклеоза с быстрой прогрессией до его фульминантной формы – гемофагоцитоза. Течение заболевания у остальных пациентов трактовалось непосредственно как ГЛГ. Возраст развития ГЛГ составил 0,8–11,5 года (медиана 2,1 года) в группе пациентов с ХЛП1

и 0,1–5,9 года (медиана 0,7 года) в группе больных с ХЛП2 (рисунки 2). Ремиссия ГЛГ была достигнута у 1 (12,5) из 8 пациентов с ХЛП1 и 9 (82%) из 11 больных с ХЛП2. ГЛГ-ассоциированная смертность до проведения ТГСК составила 75% (6/8) и 0% (0/11) в группе мальчиков с ХЛП1 и ХЛП2 соответственно.

Для установления потенциального вирусологического триггера ГЛГ были проанализированы ВЭБ-статус пациента к моменту развития ГЛГ, а также обнаруживаемые в крови вирусы (виремия) во время его манифестации (таблица 3).

ВЭБ-статус был известен у 4 из 8 пациентов с ХЛП1 и являлся положительным во всех случаях. Среди 11 пациентов с ХЛП2 и ГЛГ ВЭБ-статус известен у 9 из 11 больных и был положительным только у 2 мальчиков.

Виремия ВЭБ на момент развития ГЛГ обнаруживалась у 3 пациентов с ХЛП1 (все с положительным ВЭБ-статусом), у 1 из которых (s3.2) дополнительно к ВЭБ был выявлен вирус герпеса человека 6-го типа (ВГЧ6). У остальных результат вирусологического исследования крови на момент манифестации ГЛГ не был известен, однако у 4-го пациента с ВЭБ-положительным статусом вирус был обнаружен в спинномозговой жидкости. Среди пациентов с ХЛП2 10 из 11 человек выполнено исследование виремии ВЭБ, цитомегаловируса (ЦМВ) и ВГЧ6. Виремия ВЭБ на момент развития ГЛГ имела у 1 из 10 больных, у 3 из 10 человек определялась виремия ЦМВ ($n = 1$), ВГЧ6 ($n = 1$) или ВГЧ7 ($n = 1$). Остальные пациенты (6/10) не имели вирусной нагрузки в крови на момент развития ГЛГ.

Консервативная терапия гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза

Традиционным лечением ГЛГ является терапия в соответствии с протоколом HLH-94 или HLH-2004, принципиальным отличием которых друг от друга являются сроки начала приема циклоспорина [15, 17]. Среди описанных нами пациентов с ХЛП1 трехкомпонентную протокольную терапию получали 2 из 8 пациентов в соответствии с протоколами HLH-94 (s7) и HLH-2004 (s6.2). Монотерапию стероидами или в сочетании с циклоспорином или этопозидом получили 4 из 8 пациентов. Не получали специфическую терапию 2 из 8 пациентов, так как ГЛГ у них не был диагностирован при жизни. В связи с выраженным системным воспалительным синдромом пациенту s6.1 дополнительно был назначен антагонист фактора некроза опухоли-альфа инфликсимаб. Этиотропная терапия ВЭБ-инфекции препаратом моноклональных антител к CD20 ритуксимабом проводилась только 1 пациенту (s6.2) (таблица 3). Стойкая ремиссия ГЛГ была достигнута у 1 (12,5%) из 8 больных (s7). Пациенту s6.2 спустя месяц после инициации прото-

Таблица 3
Лечение ГЛГ у пациентов с ХЛП1 и ХЛП2

Table 3
Treatment of HLH in patients with XLP1 and XLP2

Параметр Parameter	s1	s2.1	s2.2	s3.1	s3.2	s6.1	s6.2	s7	x1	x7	x3*	x5	x4	x6	x8	x10	x2.2	x9	x2.1
Глюкокорти- костероиды Steroids																			
Циклоспорин Cyclosporin																			
Этопозид Etoposide																			
Тоцилизумаб Tocilizumab																			
Инфликсимаб Infliximab																			
Руксолитиниб Ruxolitinib																			
Эмапалумаб Emapalumab																			
Ритуксимаб Rituximab																			
ВЭБ-статус EBV-status	+	н/и n/i	н/и n/i	н/и n/i	+	+	+	н/и n/i	–	н/и n/i	–	+	–	+	–	–	–	–	н/и n/i
Виремия Viremia	ВЭБ EBV	н/и n/i	н/и n/i	н/и n/i	ВЭБ, ВГЧ6 EBV, HHV6	ВЭБ EBV	н/и n/i	ЦМВ, ВЭБ отр. EBV, CMV neg.	ЦМВ CMV	Отр. Neg.	ВГЧ7 HHV7	ВЭБ EBV	Отр. Neg.	Отр. Neg.	ВГЧ6 HHV6	Отр. Neg.	Отр. Neg.	Отр. Neg.	н/и n/i
Ремиссия ГЛГ HLH remission	–	–	–	–	–	–	–	+	–	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание. * – представлены лечение и характеристика ГЛГ у пациента x3 до первой ТГСК. Пациентам x1, x2.2–x10 выполнено ПЦР-исследование ЦМВ, ВЭБ, ВГЧ6 в крови, в таблице приведены только положительные результаты; Отр. – отрицательный результат ПЦР ЦМВ, ВЭБ, ВГЧ6 в крови; н/и – исследование либо не проводилось, либо данные отсутствуют.

Note. * – presented are HLH treatment and characteristics of patient x3 before the first HSCT. EBV – Epstein-Barr virus; HHV – Human herpes virus; CMV – Cytomegalovirus; For patients x1, x2.2–x10 PCR CMV, EBV and HHV6 in blood were done, only positive results are shown in the table; Neg. – negative results of PCR CMV, EBV and HHV6 in blood; n/i – not investigated or data is absent.

кола была проведена трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), которую он успешно перенес и жив спустя 9,5 года после нее. Остальные пациенты (6/8 – 75%) погибли от прогрессии ГЛГ. Общая смертность пациентов с ХЛП1 и ГЛГ до ТГСК составила 75% (6/8).

Большинство пациентов с ХЛП2 проходили лечение на базе специализированного учреждения, что расширяло терапевтические опции ГЛГ с учетом современных достижений: блокатор рецептора интерлейкина-6 тоцилизумаб, ингибитор JAK-киназ руксолитиниб, блокатор интерферона-гамма эмапалумаб [18–20] (таблица 3). Целью использования вышеперечисленных препаратов являлось, во-первых, сокращение побочных эффектов, ассоциированных с классической терапией ГЛГ, за счет редукции токсичных препаратов и более быстрого снижения дозы стероидов. Во-вторых, ряду пациентов потребовалась интенсификация терапии для индукции ремиссии ГЛГ.

Трехкомпонентная терапия по протоколу HLH-2004 проводилась 3 (x1, x3, x7) из 11 пациентов с ХЛП2, 2 из них – в сочетании с тоцилизумабом. У остальных пациентов (8/11) инициальная терапия базировалась на монотерапии стероидами или двухкомпонентной протокольной терапии ГЛГ с

тоцилизумабом или без него. В целях индукции или поддержания ремиссии гемофагоцитоза 3 из них лечение было интенсифицировано руксолитинибом и/или эмапалумабом. Учитывая вирусную инфекцию в момент развития ГЛГ 3 пациентам проводилась этиотропная терапия ганцикловиром (x1, x8), фоскавиром (x1) и ритуксимабом (x5). CD20-деплетизирующая терапия ритуксимабом проводилась также пациенту x10 в связи с гипериммуноглобулинемией. Ремиссии ГЛГ удалось достичь у 9 (82%) из 11 пациентов, при этом большинству из них (5 мальчикам) проводилась двухкомпонентная терапия дексаметазоном и циклоспорином/этопозидом в соответствии с протоколом HLH-2004 в сочетании с тоцилизумабом. Ни один пациент с ХЛП2 не погиб от прогрессии ГЛГ до проведения ТГСК (смертность 0%). Пациент x4 достиг гематологической ремиссии, однако спустя 2 мес скоростно скончался от сепсиса, тем самым общая смертность пациентов с ХЛП2 и ГЛГ до ТГСК составила 9% (1/11).

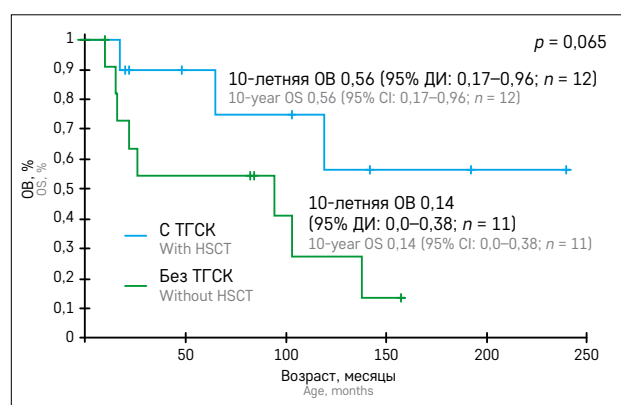
Основные побочные действия терапии ГЛГ в исследуемой группе пациентов с ХЛП1 и ХЛП2 представляли собой синдром Кушинга на фоне длительной терапии стероидами (все пациенты кроме x2 (18/19)), а также ассоциированную с циклоспорином нейро- и нефротоксичность (4/9). У 4 из

Рисунок 3

ОВ пациентов с ХЛП с ($n = 12$) и без ($n = 11$) ТГСК. По оси X текущий возраст или возраст смерти в месяцах

Figure 3

Overall survival (OS) of XLP patients with ($n = 12$) and without ($n = 11$) HSCT. The X-axis is the current age or age of death in months



19 пациентов, получавших терапию, наблюдались эпизоды нейтропении менее 1000 кл/мкл, что могло быть нежелательным действием этопозида или тоцилизумаба. У 3 пациентов, получающих лечение руксолитинибом и эмапалумабом, нежелательных действий препаратов зафиксировано не было, несмотря на возраст данных мальчиков, составляющий менее 1 года.

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

Куративным методом лечения ХЛП и его осложнений, включая гематологические, является ТГСК от аллогенного донора. В представленной группе мальчиков с ХЛП и гематологическими осложнениями 10-летняя выживаемость трансплантированных пациентов и тех, которые не были трансплантированы, составила 56% и 14% соответственно (рисунок 3). Разница в выживаемости между группами не достигла статистической значимости, вероятно, ввиду малой выборки, однако стремится к ней ($p = 0,06$).

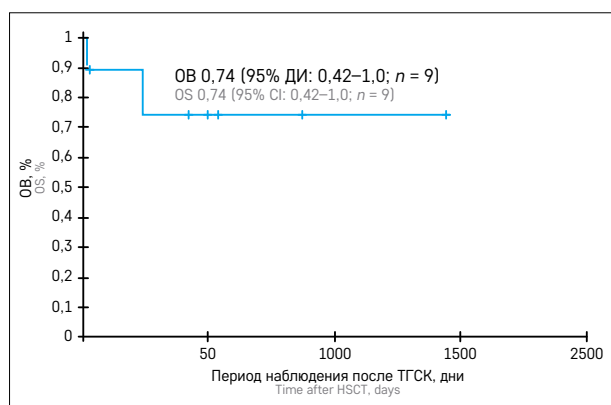
ТГСК была проведена 3 пациентам с ХЛП1 (s4.2, s6.2, s7) и 9 больным с ХЛП2 (таблица 1). У всех пациентов кроме s6.2, x1 и x3 на момент проведения ТГСК ГЛГ находился в стадии ремиссии. Медиана возраста проведения ТГСК составила 2,6 и 1,3 года для пациентов с ХЛП1 и ХЛП2 соответственно. Ввиду недостаточного количества случаев достоверно оценить выживаемость пациентов с ХЛП1 после ТГСК не представляется возможным, однако период наблюдения выживших пациентов после трансплантации составил 2,5 и 9,5 года (s4.2 и s6.2 соответственно). ОВ после ТГСК представленной в данной статье группы пациентов с ХЛП2 и гематологическими проявлениями составила 74% с периодом наблюдения выживших больных 0,1–4,0 года (медиана 1,3 года) (рисунок 4).

Рисунок 4

ОВ пациентов с ХЛП2 после ТГСК

Figure 4

OS of XLP2 patients after HSCT



ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гематологические проявления являются актуальным осложнением обоих типов ХЛП. Самым частым гематологическим осложнением в наблюдаемой нами группе пациентов с ХЛП является ГЛГ, который развился у 42% пациентов с ХЛП1 и 69% больных с ХЛП2.

Обсуждаемым остается вопрос, насколько необходим вирусологический триггер и какой именно вирус способствует активации гемофагоцитоза при ХЛП? Согласно литературным данным, самым частым вирусом, обнаруживаемым у пациентов с ХЛП, является ВЭБ. По данным E. Overwater и соавт., около 70% пациентов с ХЛП1 и ГЛГ являлись ВЭБ-положительными (ДНК-анализ), по данным J. Pachlopnik Schmid и соавт., – 92% [12, 21]. Для пациентов с ХЛП1 была продемонстрирована и патогенетическая значимость вируса. Белок SAP опосредует НК- и CD8-клеточную цитотоксичность по отношению к В-клеткам, в частности инфицированным ВЭБ [22]. В отсутствие SAP дефект киллинга ВЭБ-инфицированных В-клеток ведет к пролонгированной активации цитотоксических клеток и, как следствие, к чрезмерной выработке провоспалительных цитокинов и к активации макрофагов, что в итоге реализуется в фенотип ГЛГ [23]. Согласно имеющимся публикациям, при ХЛП2 ВЭБ также являлся основным триггером ГЛГ. Однако в ряде случаев наблюдался ЦМВ- или ВГЧ6-ассоциированный ГЛГ либо инфекционный триггер отсутствовал или, по крайней мере, не был обнаружен [6].

В анализируемой группе пациентов с ХЛП, для которых был известен ВЭБ-статус к моменту развития ГЛГ, среди мальчиков с ХЛП1 все являлись ВЭБ-положительными, с ХЛП2 – только 2 из 9. В группе пациентов с ХЛП, у которых проводилось вирусологическое исследование ВЭБ в крови на момент течения ГЛГ, все пациенты с ХЛП1 имели вирусемию

ВЭБ, тогда как с ХЛП2 – только 1 из 10. У 3 пациентов с ХЛП2 в крови были выявлены другие герпетические вирусы: ЦМВ, ВГЧ6 или ВГЧ7. Не имели вирусной нагрузки в момент манифестации ГЛГ 6 из 10 пациентов с ХЛП2, включая 1 больного с ВЭБ-положительным статусом. Таким образом, согласно собственным данным, инфекционный триггер в виде ВЭБ-инфекции особенно характерен для ХЛП1, тогда как для ХЛП2 равную значимость могут иметь и другие герпетические вирусы или отсутствие инфекционного триггера. И хотя нельзя исключить возможность наличия у них других редких инфекционных факторов, провоцирующих гемофагоцитоз, наиболее распространенные патогены были исследованы.

На сегодняшний день не существует стандартов лечения ГЛГ при ХЛП1 и ХЛП2. Большинство описанных в литературе пациентов с ХЛП1 получали терапию в соответствии с протоколами HLH-94 и HLH-2004 [5]. Терапия ГЛГ при ХЛП2 имела большее разнообразие, включая в себя стероиды с циклоспорином или без него, с этопозидом или без него. Опубликован случай, когда с успехом был применен алемтузумаб в качестве терапии отчаяния. В редких случаях пациенты с ХЛП2 не получали специфическую терапию ввиду того, что ГЛГ не был вовремя диагностирован, и выжили [24].

В исследуемой нами группе больных ремиссия ГЛГ была достигнута у 12,5% пациентов с ХЛП1 и у 82% человек с ХЛП2. ГЛГ-ассоциированная смертность составила 75% у пациентов с ХЛП1 и 0% – с ХЛП2. Можно сделать вывод, что при несколько более поздней манифестации (2,1 года против 0,7 года) ГЛГ при ХЛП1 характеризуется более агрессивным течением, а следовательно, требует инициации адекватной иммуносупрессивной терапии как можно раньше. Действительно, пациенты с ХЛП1, получающие протокольную трехкомпонентную терапию, имели благоприятный исход ГЛГ.

Токсичность препаратов, включенных в классические протоколы лечения ГЛГ [25], повышенная чувствительность пациентов с дефицитом ингибитора апоптоза XIAP к химиотерапии [26], а также указания на неполную форму ГЛГ при ХЛП2 стали предпосылками к использованию редуцированного протокола лечения ГЛГ у анализируемых в статье пациентов с ХЛП2. Помимо вышеперечисленных факторов, дополнительным поводом редукции терапии стали очень ранняя манифестация ГЛГ (до 1 года) у пациентов представленной группы. Лечение на основе трехкомпонентной протокольной терапии проводилось только 3 пациентам, у 2 из которых ремиссия ГЛГ тем не менее не была достигнута. Большинство же пациентов среди тех, у кого удалось достичь ремиссии ГЛГ, изначально получали терапию, редуцированную до 2 протокольных препаратов в сочетании с анта-

гонистом интерлейкина-6. В целях индукции или поддержания ремиссии ГЛГ у нескольких пациентов были успешно применены руксолитиниб и/или эмапалумаб. Таким образом, у пациентов с ХЛП2 и ГЛГ в качестве терапии 1-й линии целесообразно использовать двухкомпонентную терапию дексаметазоном и циклоспорином или этопозидом в соответствии с протоколом HLH-2004. Принимая во внимание плохую переносимость циклоспоринола и ранний возраст, выбор в пользу этопозидов может быть более оправданным. Дополнительное назначение тоцилизумаба может способствовать не только индукции ремиссии ГЛГ, но и более быстрому снижению дозы стероидов.

На сегодняшний день в условиях высокой стоимости ингибиторов JAK-киназы и антагонистов интерферона-гамма лечение данными препаратами рассматривается как терапия 3-й линии, применяемая, как правило, при отсутствии эффекта от лечения по протоколу HLH-2004 с добавлением препаратов 2-й линии. Однако эффективность в достижении ремиссии при агрессивном течении ГЛГ и хорошая переносимость препаратов, в том числе детьми в возрасте до 1 года, являются факторами, говорящими в пользу рассмотрения их в качестве терапии 1-й линии.

В соответствии с собственным опытом, вне зависимости от типа ХЛП и терапевтической опции ГЛГ, при наличии виремии всем пациентам в кратчайшие сроки рекомендована инициация этиотропной терапии в целях купирования действия потенциального провоцирующего фактора.

Цитопении при ХЛП1 и ХЛП2 мало описаны и патогенез их до конца не ясен. Чаще указания на цитопению встречаются среди пациентов с ХЛП2, где она расценивается как неполная форма ГЛГ. В анализируемой нами группе пациентов с ХЛП частота цитопении составила 21% среди больных с ХЛП1 и 12,5% – с ХЛП2. Несмотря на предрасположенность к ГЛГ ни у одного из 4 описанных в данной статье пациентов с ХЛП1 и цитопенией за длительный период наблюдения не развился ГЛГ. В том числе на момент диагностики цитопении у 1 из пациентов (s5) наблюдалась умеренная гепатоспленомегалия, а в костном мозге определялись единичные клетки макрофагально-гистиоцитарного ряда с явлением фагоцитоза эритроцитов и тромбоцитов, и тем не менее за двухгодичный период наблюдения течение заболевания не осложнилось ГЛГ. Среди пациентов с ХЛП2 оба развили полную форму ГЛГ вскоре после дебюта цитопении. Таким образом, цитопении при ХЛП1 следует расценивать как аутоиммунные и в случае необходимости лечения использовать иммуносупрессивную терапию, тогда как цитопении при ХЛП2 стоит рассматривать не только как частичную форму ГЛГ, но и как фактор риска его развития. Для

ответа на вопрос, требуется ли в таком случае назначение упреждающей иммуносупрессивной терапии, необходим анализ большего числа пациентов.

Вне зависимости от осложнений ХЛП единственным радикальным методом лечения данных ПИД на сегодняшний день является проведение ТГСК от аллогенного донора. Успехи ТГСК отличаются у пациентов с ХЛП1 и ХЛП2. Работы R.A. Marsh и соавт. продемонстрировали ОВ после ТГСК с кондиционированием сниженной токсичности, равную 71% для пациентов с ХЛП1 [27] и лишь 43% для больных с ХЛП2 [28]. В анализируемой нами группе пациентов с ХЛП, имеющих гематологические осложнения, 10-летняя ОВ пациентов без ТГСК составила всего 14%, что лишний раз подчеркивает актуальность своевременной диагностики и раннего проведения ТГСК у данных больных. В силу малочисленности случаев оценить выживаемость пациентов с ХЛП1 после ТГСК не представляется возможным. Выживаемость же пациентов с ХЛП2 и гематологическими осложнениями после ТГСК составила 74%, что не хуже результатов литературных данных. Однако стоит подчеркнуть, что различия в методике ТГСК исключают возможность проведения корректного сравнения. Ни один из наблюдаемых нами пациентов не имел гематологических осложнений, ассоциированных с основным заболеванием, после ТГСК. Прогностически значимым фактором выживаемости ТГСК, согласно литературным данным, является ремиссия ГЛГ [28]. В качестве единичных наблюдений можно выделить пациента s6.2, у которого ремиссия ГЛГ не была достигнута, но который был успешно трансплантирован. При этом оба пациента с ХЛП2 (x1, x3), у которых не была достигнута ремиссия ГЛГ к моменту ТГСК, погибли. Для проведения корреляционного анализа необходима большая выборка пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гематологические проявления являются жизнеугрожающим осложнением при ХЛП обоих типов. Как следует из вышесказанного, терапевтические подходы могут отличаться для пациентов с ХЛП1 и ХЛП2. Анализ большего числа случаев позволит подчеркнуть данные различия и улучшить качество лечения пациентов с ХЛП и гематологическими осложнениями.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Roppelt A.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5132-1267>
 Laberko A.L. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2354-2588>
 Burlakov V.I. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1267-9957>
 Kan N.Yu. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3564-6496>
 Rodina Yu.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9857-4456>
 Yuhacheva D.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9078-8206>
 Viktorova E.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2427-1417>
 Selezneva O.S. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1907-4168>
 Pershin D.E. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6148-7209>
 Vedmedskaya V.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7247-4844>
 Raykina E.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7634-2053>
 Varlamova T.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0501-8686>
 Kieva A.M. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2467-2840>
 Mann S.G. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1014-5196>
 Polyakov A.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0105-1833>
 Sermiyagina I.G. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9047-1938>
 Petrova U.N. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1258-8281>
 Kalinina I.I. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0813-5626>
 Shelikhova L.N. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0520-5630>
 Balashov D.N. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2689-0569>
 Kondratenko I.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4834-4075>
 Maschan A.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0016-6698>
 Shcherbina A.Yu. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3113-4939>

Литература

1. Роппельт А.А., Юхачева Д.В., Мякова Н.В., Сминова Н.В., Скворцова Ю.В., Варламова Т.В. и др. X-сцепленный лимфопролиферативный синдром 1 и 2 типов. Вопросы гематологии/онкологии и иммунологии в педиатрии 2016; 15 (1): 17–26.
2. Seemayer T.A., Gross T.G., Egeler R.M., Pirruccello S.J., Davis J.R., Kelly C.M., et al. X-linked lymphoproliferative disease: twenty-five years after the discovery. *Pediatr Res* 1995; 38 (4): 471–8. DOI: 10.1203/00006450-199510000-00001
3. Coffey A.J., Brooksbank R.A., Brandau O., Oohashi T., Howell G.R., Bye J.M., et al. Host response to EBV infection in X-linked lymphoproliferative disease results from mutations in an SH2-domain encoding gene. *Nat Genet* 1998; 20 (2): 129–35. DOI: 10.1038/2424
4. Rigaud S., Fondanèche M.C., Lambert N., Pasquier B., Mateo V., Soulas P., et al. XIAP deficiency in humans causes an X-linked lymphoproliferative syndrome. *Nature* 2006; 444 (7115): 110–4. DOI: 10.1038/nature05257
5. Booth C., Gilmour K.C., Veys P., Gennery A.R., Slatyer M.A., Chapel H., et al. X-linked lymphoproliferative disease due to SAP/SH2D1A deficiency: a multicenter study on the manifestations, management and outcome of the disease. *Blood* 2011; 117 (1): 53–62. DOI: 10.1182/blood-2010-06-284935
6. Aguilar C., Latour S. X-linked inhibitor of apoptosis protein deficiency: more than an X-linked lymphoproliferative syndrome. *J Clin Immunol* 2015; 35 (4): 331–8. DOI: 10.1007/s10875-015-0141-9
7. Al-Samkari H., Berliner N. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Annu Rev Pathol* 2018; 13: 27–49. DOI: 10.1146/annurev-pathol-020117-043625
8. Purtilo D.T., Cassel C., Yang J.P. Letter: fatal infectious mononucleosis in

- familial lymphohistiocytosis. *N Engl J Med* 1974; 291 (14): 736. DOI: 10.1056/nejm197410032911415
9. Kesici S., Keskin E.Y., Chiang S., Kasap-kara C.S., Sekine T., Akçaboy M., et al. First Report of an SH2D1A Mutation Associated with X-Linked Lymphoproliferative Disease in Turkey. *Turk J Hematol* 2018; 35 (3): 200–16. DOI: 10.4274/tjh.2017.0445
 10. Jin Y., Zhou W., Tian Z., Chen T.X. Variable clinical phenotypes of X-linked lymphoproliferative syndrome in China: Report of five cases with three novel mutations and review of the literature. *Hum Immunol* 2016; 77 (8): 658–66. DOI: 10.1016/j.humimm.2016.06.005
 11. Baranski B., Armstrong G., Truman J.T., Quinnan G.V. Jr, Straus S.E., Young N.S. Epstein-Barr virus in the bone marrow of patients with aplastic anemia. *Ann Intern Med* 1988; 109 (9): 695–704. DOI: 10.7326/0003-4819-109-9-695
 12. Pachlopnik Schmid J., Canioni D., Moshous D., Touzot F., Mahlaoui N., Hauck F., et al. Clinical similarities and differences of patients with X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 (XLP-1/SAP deficiency) versus type 2 (XLP-2/XIAP deficiency). *Blood* 2011; 117 (5): 1522–9. DOI: 10.1182/blood-2010-07-298372
 13. Latour S., Aguilar C. XIAP deficiency syndrome in humans. *Semin Cell Dev Biol* 2015; 39: 115–23. DOI: 10.1016/j.semcdb.2015.01.015
 14. [Электронный ресурс]. URL: <https://esid.org/Working-Parties/Registry-Working-Party/Diagnosis-criteria>. (Дата обращения 27.07.2020).
 15. Henter J., Horne A., Aricó M., Egeler R.M., Filipovich A.H., Imashuku S., et al. HLH-2004: Diagnostic and Therapeutic Guidelines for Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 48 (2): 124–31. DOI: 10.1002/pbc.21039
 16. Xu X., Tang Y. Dilemmas in diagnosis and management of hemophagocytic lymphohistiocytosis in children. *World J Pediatr* 2020; 16 (4): 333–40. DOI: 10.1007/s12519-019-00299-3
 17. Bergsten E., Horne A., Aricó M., Astigarraga I., Egeler R.M., Filipovich A.H., et al. Confirmed efficacy of etoposide and dexamethasone in HLH treatment: long term results of the cooperative HLH-2004 study. *Blood* 2017; 130 (25): 2728–38. DOI: 10.1182/blood-2017-06-788349
 18. Horne A., Wickström R., Jordan M.B., Yeh E.A., Naqvi A., Henter J., Janka G. How to Treat Involvement of the Central Nervous System in Hemophagocytic Lymphohistiocytosis? *Curr Treat Options Neurol* 2017; 19 (1): 3. DOI: 10.1007/s11940-017-0439-4
 19. Sin J.H., Zangardi M.L. Ruxolitinib for secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis: First case report. *Hematol Oncol Stem Cell Ther* 2017; 12 (3): 166–70. DOI: 10.1016/j.hemonc.2017.07.002
 20. Al-Salama Z. Emapalumab: First Global Approval. *Drugs* 2019; 79 (1): 99–103. DOI: 10.1007/s40265-018-1046-8
 21. Overwater E., Smulders Y., Burg M., Lombardi M.P., Meijers-Heijboer H.E., Kuijpers T.W., Houweling A.C. The value of DNA storage and pedigree analysis in rare diseases: a 17-year-old boy with X-linked lymphoproliferative disease (XLP) caused by a de novo SH2D1A mutation. *Eur J Pediatr* 2014; 173 (12): 1695–8. DOI: 10.1007/s00431-014-2313-7
 22. Veillette A. NK cell regulation by SLAM family receptors and SAP-related adapters. *Immunol Rev* 2006; 214: 22–34. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2006.00453.x
 23. Filipovich A., Kejian Zhang K., Snow A., Marsh R.A. X-linked lymphoproliferative syndromes: brothers or distant cousins? *Blood* 2010; 116 (18): 3398–408. DOI: 10.1182/blood-2010-03-275909
 24. Marsh R.A., Madden L., Kitchen B.J., Mody R., McClimon B., Jordan M.B., et al. XIAP deficiency: a unique primary immunodeficiency best classified as X-linked familial hemophagocytic lymphohistiocytosis and not as X-linked lymphoproliferative disease. *Blood* 2010; 116 (7): 1079–82. DOI: 10.1182/blood-2010-01-256099
 25. Jordan M.B. Emergence of Targeted Therapy for Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Hematologist* 2018; 15 (Issue 2).
 26. Rumble J.M., Oetjen K.A., Stein P.L., Schwartzberg P.L., Moore B.B., Duckett C.S. Phenotypic differences between mice deficient in XIAP and SAP, two factors targeted in X-linked lymphoproliferative syndrome (XLP). *Cell Immunol* 2009; 259 (1): 82–9. DOI: 10.1016/j.cellimm.2009.05.017
 27. Marsh R.A., Bleesing J.J., Chandrakasan S., Jordan M.B., Davies S.M., Filipovich A.H. Reduced-intensity conditioning hematopoietic cell transplantation is an effective treatment for patients with SLAM-associated protein deficiency/X-linked lymphoproliferative disease type 1. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20 (10): 1641–5. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.06.003
 28. Marsh R.A., Rao K., Satwani P., Lehmberg K., Müller I., Li D., et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for XIAP deficiency: an international survey reveals poor outcomes. *Blood* 2013; 121 (6): 877–83. DOI: 10.1182/blood-2012-06-432500

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-73-76

Трансфузионно-зависимый фенотип талассемии при сочетании аномалий глобиновых генов: трипликация α -глобиновых генов с β -талассемией

Е.А. Черняк, М.Е. Лохматова, С.Г. Манн, Н.А. Карамян

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 04.09.2019
Принята к печати 30.03.2020

Талассемии – это группа наследственных гемолитических анемий, обусловленных количественным нарушением синтеза глобиновых цепей. У взрослого человека основной гемоглобин (HbA) состоит из 2 α - и 2 β -цепей. В норме регуляторные механизмы обеспечивают поддержание баланса между α - и не α -глобиновыми цепями в соотношении 1:1. Мутации в β -глобиновом гене, приводящие к количественному нарушению синтеза β -глобиновых цепей, приводят к развитию β -талассемии. У таких пациентов наличие сопутствующих поломок α -глобиновых генов может обуславливать вариативность клинической картины, как смягчая, так и усиливая выраженность проявлений β -талассемии. В статье описано

2 клинических случая трансфузионно-зависимой талассемии с редким генотипом: $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti-3.7}}/\alpha\alpha$ и β -талассемией. Родители дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: трипликация α -глобинового гена, наследственная гемоглобинопатия, β -талассемия

Черняк Е.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 73–76.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-73-76

Transfusion-dependent phenotype of thalassemia in case of combined carriage of globin genes abnormalities: α -globin gene triplication and β -thalassemia

Е.А. Черняк, М.Е. Лохматова, С.Г. Манн, Н.А. Карамян

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPOI»
Received 04.09.2019
Accepted 30.03.2020

Thalassemia is a group of hereditary hemolytic anemias, caused by a quantitative violation of the globin chains synthesis. In adults, the main hemoglobin (HbA) consists of two α - and two β -chains. Normally, regulatory mechanisms maintain a balance between α - and non- α -globin chains in a 1:1 ratio. Mutations in the β -globin gene, leading to a quantitative disruption of the synthesis of β -globin chains, lead to the development of β -thalassemia. In such patients, the presence of concomitant breakdowns of α -globin genes can determine the variability of the clinical symptoms, both mitigating or increasing the severity of the manifestations of beta-thalassemia. The article describes two clinical cases of transfusion-dependent thalassemia with a rare genotype: $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti-3.7}}/\alpha\alpha$ and β -thalassemia. Parents gave their consent to use information about the child, including

fotos, in the article.

Key words: triplicated α -globin locus, hereditary hemoglobinopathy, β -thalassemia

Cherniak E.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 73–76.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-73-76

Correspondence:

Ekaterina A. Cherniak, scientific co-worker of the department of optimizing of treatment of hematological diseases, Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation
Address: Russia, 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
E-mail: ekaterina.chernyak@fccho-moscow.ru

Талассемии (от греч. *thalassa* – море и *háima* – кровь) – группа наследственных гемолитических анемий с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленных количественным нарушением синтеза полипептидных цепей, входящих в состав гемоглобина. В норме регуляторные механизмы обеспечивают поддер-

жание баланса между α - и β -цепями в соотношении 1:1, что обеспечивает преобладание нормального гемоглобина взрослого человека (HbA; $\alpha_2\beta_2$). Кроме того, среди нормальных фракций гемоглобина может быть представлен HbA2 ($\alpha_2\delta_2$) (1,5–3,5%) и фетальный гемоглобин (HbF; $\alpha_2\gamma_2$) (до 0,5%). Развитие β -талассемии вызвано мутацией

Таблица 1

Результаты обследования пациентов с гетерозиготной β -талассемией в сочетании с гетерозиготной трипликацией α -глобинового гена ($\alpha\alpha^{\text{anti-3.7}}$)

Table 1

Results of patients with heterozygous β -thalassemia combined with heterozygous triplication of the α -globin gene ($\alpha\alpha^{\text{anti-3.7}}$)

Параметр Indicator	Пациент В., 9 лет Patient V., 9 y. o.	Пациент О., 10 лет Patient O., 10 y. o.
HBB	IVS2-654C>T в гетерозиготном состоянии IVS2-654C>T heterozygous mutation -223T>C в промоторной области в гетерозиготном состоянии Heterozygous mutation -223T>C in the promoter region of β -globin gene	CD8(-AA) [c.25_26delAA] в гетерозиготном состоянии CD8(-AA) [c.25_26delAA] heterozygous mutation
HBA	$\alpha\alpha^{\text{anti-3.7}}/\alpha\alpha$	$\alpha\alpha^{\text{anti-3.7}}/\alpha\alpha$
Пол Gender	Мужской Male	Мужской Male
Возраст дебюта заболевания Age of the disease debut	< 2 лет < 2 y. o.	< 2 лет < 2 y. o.
Трансфузионная зависимость Transfusion dependence	С 4 лет From 4 years old	Нет No
Гепатоспленомегалия Hepatosplenomegaly	Селезенка +3,0 см, печень +2,0 см Spleen +3.0 cm, liver +2.0 cm	Нет No

в β -глобиновом гене, в результате чего уменьшается синтез β -цепей с накоплением избыточного количества свободных α -глобиновых цепей. Поломки α -глобиновых генов обуславливают нарушение синтеза α -цепей, приводя к дисбалансу глобиновых цепей за счет снижения или повышения количества α -глобина. При этом сочетанные мутации α - и β -глобиновых генов могут оказывать взаимное влияние друг на друга, как утяжеляя, так и облегчая течение заболевания, тем самым обуславливая вариативность клинической картины.

При тяжелых формах β -талассемии основную роль в патофизиологии заболевания играет непосредственно накопление избытка α -глобиновых цепей. Свободные α -глобиновые цепи преципитируют на внутренней поверхности клеточной мембраны эритробластов, повреждая их цитоскелет и приводя к их гибели [1, 2]. Эти изменения, в свою очередь, приводят к развитию неэффективного эритропоэза. При этом у пациентов с гомозиготными/компаунд-гетерозиготными мутациями β -глобинового гена наблюдается наличие α -талассемических аллелей, способствующих уменьшению количества α -глобиновых цепей, что, как правило, обеспечивает более мягкое течение заболевания [3].

В то же время у пациентов с гетерозиготными мутациями β -глобинового гена именно дисбаланс

Таблица 2

Результаты лабораторных и инструментальных исследований пациентов

Table 2

Results of laboratory and instrumental studies of patients

Параметр Indicator	Пациент В., 9 лет Patient V., 9 y. o.	Пациент О., 10 лет Patient O., 10 y. o.
Общий анализ крови Routine blood test		
Hb, г/л	77	93
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$ RBC, $\times 10^{12}/l$	4,16	5,5
MCV, фл MCV, fl	57,7	51,8
MCH, пг MCH, pg	18,5	16,5
MCHC, г/л MCHC, g/l	321	319
Ретикулоциты, ‰ Reticulocytes, ‰	33,6	20,7
Тромбоциты, $\times 10^9/л$ PLT, $\times 10^9/l$	378	257
Лейкоциты, $\times 10^9/л$ WBC, $\times 10^9/l$	11,37	6,86
Биохимический анализ крови Blood chemistry test		
Общий билирубин, мкмоль/л Total bilirubin, $\mu\text{mol} / l$	52,6	6,4
Непрямой билирубин, мкмоль/л Unconjugated bilirubin, $\mu\text{mol}/l$	37,4	3
Электрофорез гемоглобина Hemoglobin electrophoresis		
HbA2, %	5,7	Н. д. Not performed
HbF, %	8,2	Н. д. Not performed
Инструментальное обследование Instrumental examination		
Ультразвуковое исследование органов брюшной полости Abdominal Ultrasound	Спленомегалия 98 $\times$ 41 мм Splenomegaly 98 $\times$ 41 mm	Н. д. Not performed

Примечание. MCV – средний объем эритроцитов; MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроците; MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроците; Н. д. – нет данных, исследование не проводили
Note. RBC – red blood cells; MCV – mean corpuscular volume; MCH – mean concentration hemoglobin; MCHC – mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT – Platelets; WBC – white blood cell.

α -глобиновых цепей за счет увеличения количества α -глобиновых генов может служить предпосылкой к более тяжелому течению заболевания [4, 5].

Согласно опубликованным данным [6, 7], сочетанное наследование трипликации α -глобинового гена с гетерозиготной β -талассемией, как правило, характеризуется более выраженной анемией с более высоким содержанием HbF, в большинстве случаев не требует трансфузионной поддержки либо требует ее в ограниченный период времени, в зависимости от степени повреждения β -глобиновых генов. У пациентов с таким редким генотипом редко встречается умеренная гепатоспленомегалия, а выраженная спленомегалия описана в единичных случаях [8].

Учитывая редкое сочетание подобных генетических поломок α - и β -глобиновых генов и слож-

ность диагностики, приводим анализ 2 клинических случаев сочетания трипликации α -глобиновых генов с β -талассемией. Результаты обследования пациентов с редким талассемическим генотипом представлены в *таблицах 1 и 2*.

Родители дали согласие на использование информации, в том числе фотографий детей, в научных исследованиях и публикациях.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ № 1

Пациент В., 9 лет. В марте 2014 г. в возрасте 4 лет 3 месяцев родителями на фоне хорошего общего самочувствия мальчика впервые было отмечено потемнение мочи. При исследовании общего клинического анализа крови выявлено снижение концентрации гемоглобина. Состояние было расценено как железодефицитная анемия и начата терапия препаратом железа (III) на основе полимальтозного комплекса гидроксида.

Через 1 мес от начала терапии, учитывая отсутствие эффекта от препарата железа, пациент направлен на консультацию к врачу-гематологу в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. При анализе амбулаторной карты было отмечено, что снижение гемоглобина отмечалось с раннего возраста, до 76–78 г/л – с 3 лет (с февраля 2013 г.). При физикальном осмотре у пациента обращала на себя внимание иктеричность кожных покровов с зеленоватым оттенком.

Из семейного анамнеза известно, что у матери и бабушки по материнской линии в течение жизни отмечалась анемия легкой степени (гемоглобин не ниже 100 г/л). Также бабушке в возрасте 35 лет была проведена холецистэктомия по поводу желчнокаменной болезни.

Учитывая семейный анамнез и результаты проведенного обследования, у ребенка была заподозрена наследственная гемолитическая анемия.

По результатам проведенного обследования (*таблица 2*) пациенту был установлен предварительный диагноз: β -талассемия, промежуточная форма. Было выполнено молекулярно-генетическое исследование образцов ДНК, выделенной из лейкоцитов периферической крови пациента, методом прямого секвенирования по Сэнгеру. Анализ последовательности гена β -глобина (*HBB*) показал наличие замены во втором интроне IVS2-654C>T в гетерозиготном состоянии, приводящей к β^0 -талассемии, а также наличие замены в промоторной области -223T>C в гетерозиготном состоянии, приводящей к β^{+++} -талассемии. Поскольку клинически тяжесть состояния не соответствовала выявленному генотипу, дополнительно был

проведен поиск увеличения количества α -глобиновых генов (*HBA1*, *HBA2*) методом MLPA-анализа (мультиплексная амплификация лигазносвязанных проб), что позволило обнаружить трипликацию α -глобинового гена ($\alpha\alpha\alpha^{\text{anti-3.7}}$). Таким образом, у ребенка трансфузионно-зависимый фенотип талассемии имеет редкий генотип – $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti-3.7}}/\alpha\alpha$ в сочетании с компаунд-гетерозиготностью IVS2-654C>T/-223T>C.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ № 2

Пациент О., 10 лет. Из семейного анамнеза известно, что у отца выявлена анемия легкой степени, у старшего брата и матери гемограмма без особенностей. У ребенка с раннего возраста отмечено незначительное снижение гемоглобина, периодически получал терапию препаратами железа – без эффекта.

В 2010 г. в возрасте 2 лет ребенок консультирован в Российской детской клинической больнице (Москва), по результатам проведенного обследования установлен диагноз: малая форма β -талассемии. По результатам молекулярно-генетического исследования методом прямого секвенирования при анализе последовательности гена *HBB* выявлена мутация CD8(-AA) [c.25_26delAA] в гетерозиготном состоянии, что клинически проявляется малой формой β -талассемии.

В июле 2013 г. у мальчика в гемограмме обнаружено снижение гемоглобина до 84 г/л, в связи с чем ребенок был впервые консультирован гематологом в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Учитывая несоответствие между тяжестью анемии и установленным диагнозом – малая форма β -талассемии – принято решение о необходимости проведения молекулярно-генетического исследования количества α -глобиновых генов методом MLPA. По результатам проведенного исследования у мальчика также выявлена трипликация α -глобиновых генов ($\alpha\alpha\alpha^{\text{anti-3.7}}/\alpha\alpha$), что в сочетании с гетерозиготностью по β^0 -талассемии приводит к фенотипическим проявлениям промежуточной формы β -талассемии.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В первом клиническом случае заболевание характеризуется тяжелым, трансфузионно-зависимым течением, что обусловлено именно сочетанием компаунд-гетерозиготной β -талассемии с трипликацией α -глобинового гена, в результате чего дисбаланс α -и β -глобиновых цепей резко усилился, что и реализовалось в утяжелении

клинического течения заболевания – большой форме β -талассемии.

У второго из рассмотренных в данной статье пациентов редкий генотип $\alpha\alpha^{\text{anti-3.7}}/\alpha\alpha$ в сочетании с гетерозиготностью по CD8(-AA) приводит также к утяжелению клинического течения – промежуточной форме β -талассемии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данные клинические наблюдения иллюстрируют важность проведения полного молекулярно-генетического обследования пациентов с наследственными гемоглобинопатиями.

Особую настороженность стоит проявлять при нетипичном течении заболевания у пациента и

отсутствии корреляции между фенотипом и результатами стандартных лабораторных исследований (электрофорез фракций гемоглобина, молекулярно-генетическое исследование гена *HBB*).

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Cherniak E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3852-9634>

Lokhmatova M.E. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4222-2915>

Mann S.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1014-5196>

Karamjan N.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9865-527X>

Литература

1. Гемоглобинопатии и талассемические синдромы. Под ред. Румянцев А.Г., Токарева Ю.Н., Сметанной Н.С. М.: Практическая медицина; 2015. 448 с.
2. Weatherall D.J., Clegg J.B. The Thalassemia Syndromes. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1981.
3. Wainscoat J.S., Kanavakis E., Wood W.G., Letsky E.A., Huehns E.R., Marsh G.W., et al. Thalassemia intermedia in Cyprus: the interaction of α - and β -thalassaemia. Br J Haematol 1983; 53 (3): 411–6. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1983.tb02041.x
4. Sampietro M., Cazzola P., Cappellini M.D., Fiorelli G. The triplicated alpha-gene locus and heterozygous beta thalassaemia: a case of thalassaemia intermedia. Br J Haematol 1983; 55 (4): 709–10. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1983.tb02854.x
5. Galanello R., Ruggeri R., Paglietti E., Addis M., Melis M.A., Cao A. A family with segregating triplicated alpha globin locus and beta thalassaemia. Blood 1983; 62 (5): 1035–40.
6. Traeger-Synodinos J., Kanavakis E., Vrettou C., Maragoudaki E., Michael T., Metaxotou-Mavromati A., Kattamis C. The Triplicated Alpha-Globin Gene Locus in Beta-Thalassaemia Heterozygotes: Clinical, Haematological, Biosynthetic and Molecular Studies. Br J Haematol 1997; 95 (3): 467–71. DOI: 10.1046/j.1365-2141.1996.d01-1939.x
7. Mehta P.R., Upadhye D.S., Sawant P.M., Gorivale M.S., Nadkarni A.H., Shanmukhaiah C., et al. Diverse phenotypes and transfusion requirements due to interaction of β -thalassemias with triplicated α -globin genes. Ann Hematol 2015; 94 (12): 1953–8. DOI: 10.1007/s00277-015-2479-8
8. Wang C., Amato D. Chronic and severe haemolytic anaemia caused by co-inheritance of beta-thalassaemia and triplicated alpha-globin genes. Br J Haematol 2007; 137 (6): 489. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2007.06575.x
9. Li C.K. New trend in the epidemiology of thalassaemia. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2017; 39: 16–26. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2016.10.013

Случаи транзиторного аномального миелопоэза

М.А. Климентова, И.И. Чиквина, Л.А. Хачатрян

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 21.12.2019
Принята к печати 06.03.2020

Транзиторный аномальный миелопоэз (ТАМ) – уникальный гематологический синдром, характерный для новорожденных с синдромом Дауна. Клинические и гематологические проявления ТАМ аналогичны проявлениям острого лейкоза, однако в динамике самопроизвольно разрешаются в течение нескольких недель/месяцев после рождения. Обязательным звеном в развитии данного синдрома является совокупность в клетках бластного клона трисомии 21-й хромосомы и мутации в гене *GATA1*. Презентация данного синдрома происходит в первые дни жизни, клинические проявления варьируют от бессимптомного («молчащего») ТАМ до гибели плода или новорожденного. Основным интерес в изучении данного вопроса представляет тот факт, что после спонтанной регрессии ТАМ в 20% случаев в возрасте до 5 лет развивается острый миелобластный лейкоз (ОМЛ), М7-вариант по FAB-классификации. Факторы, лежащие в основе трансформации ТАМ в ОМЛ доподлинно неизвестны. В настоящей статье представлен анализ 6 случаев ТАМ, выявленных в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в период с 2012 по 2019 г. Родители дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: транзиторный аномальный миелопоэз, транзиторная лейкемия, синдром Дауна, острый мегакариобластный лейкоз, *GATA1*

Климентова М.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 77–83.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-77-83

Cases of transient abnormal myelopoiesis

M.A. Klimentova, I.I. Chikvina, L.A. Khachatryan

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

Transient abnormal myelopoiesis (TAM) is a unique hematological syndrome specific for neonates with Down syndrome.

Clinical and hematological manifestations of TAM are similar manifestations of acute leukemia, but they may resolve spontaneously by few weeks/months after birth. Summation trisomy 21 and *GATA1* mutation in blast clone is a required element for development TAM. Presentation of this syndrome occurs in the first days of life; clinical manifestations may be absent ("silent" TAM) or even lead to death of fetus and neonate. The main interest in the study of this issue is the fact that after spontaneous regression there in 20% of cases at the age of 3–4 years developing acute megakaryoblastic leukaemia (AMKL). The basic transformation factors TAM to AMKL are unknown. In this article we represent 6 cases of TAM identified in Dmitry Rogachev National Research Center for Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology from 2012 to 2019. Parents of these patients gave their agreement to use personal data in research and publications.

Key words: transient abnormal myelopoiesis, transient leukemia, Down syndrome, acute megakaryoblastic leukemia, *GATA1*

Klimentova M.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 77–83.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-77-83

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPOI»
Received 21.12.2019
Accepted 06.03.2020

Correspondence:

Lili A. Khachatryan, Cand. of Sci. (Med.), hematologist, Head of Box Department of Hematology/Oncology, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology
Address: Russia, 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
E-mail: lili.2510@yandex.ru

Транзиторный аномальный миелопоэз (ТАМ; транзиторное миелопролиферативное расстройство, транзиторная лейкемия) – это клональное заболевание, характеризующееся наличием циркулирующих мегакариобластов в периферической крови и диспоэза в костном мозге. Данный гематологический синдром характерен для новорожденных с синдромом Дауна [1]. Частота выявления ТАМ у таких пациентов варьирует от 5 до 30% в зависимости от используемых методов диагностики [2].

В основе патогенеза лежит приобретенная мутация в гене *GATA1*. Ген *GATA1* играет важную роль в дифференцировке мегакариоцитов. Специфическая «усекающая» N-терминальный конец белка мутация в гене *GATA1* по типу «стоп кодон» во втором (реже – третьем) экзоне гена приводит к синтезу укороченного белка *GATA1s*. Укороченный белок имеет сниженную регуляторную активность в отношении терминальной дифференцировки мегака-

риоцитов и приводит к накоплению их малодифференцированных предшественников [3–6].

Необходимо отметить, что одной лишь мутации в гене *GATA1* недостаточно для развития ТАМ. Обязательным звеном является наличие трисомии 21-й хромосомы, которая, скорее всего, играет ведущую роль в развитии данного состояния (рисунки 1). Повышает ли обусловленная трисомией 21-й хромосомы пролиферация клеток-предшественников вероятность возникновения мутаций в гене *GATA1* или придает селективное преимущество таким клеткам, но очевидно, что изменения гемопоэза, обусловленные трисомией 21-й хромосомы, являются необходимой предпосылкой для развития мутации в гене *GATA1* [8]. В литературе описаны случаи ТАМ без мутации в гене *GATA1*, что, возможно, может объясняться недостаточной чувствительностью методов диагностики или указывать на существование редких случаев ТАМ без данной мутации [9].

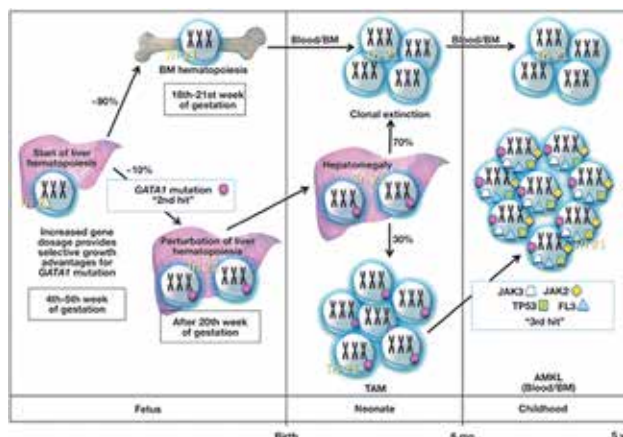
Рисунок 1

Генетические события в бластных клетках при ТАМ [7]. По последним представлениям первым звеном в развитии ТАМ является наличие трисомии 21-й хромосомы в бластных клетках (первый «удар»). В дальнейшем в печени происходит так называемый второй «удар» – бластные клетки с трисомией 21-й хромосомы приобретают мутацию в гене *GATA1*, что снижает регуляторную активность белка *GATA1* в отношении терминальной дифференцировки мегакариоцитов, тем самым приводя к накоплению малодифференцированных предшественников мегакариоцитов и развитию клинической картины ТАМ. Однако этого недостаточно для развития ОМЛ. Предполагается, что в основе его развития лежит некая третья мутация (третий «удар»). В качестве возможных рассматриваются мутации в генах *JAK2*, *JAK3*, *TP53*, *FL3* или их совокупность

Figure 1

Genetic events in blast cells in TAM [7].

According to the latest ideas, the first link in the development of TAM is the presence of trisomy 21 in blast cells (first "hit"). In the future, second "hit" occurs in the liver – blast cells with trisomy 21 acquire a mutation in the *GATA1* gene, which reduces the regulatory activity of the *GATA1* protein in relation to the terminal differentiation of megakaryocytes, thereby leading to the accumulation of poorly differentiated megakaryocyte precursors and the development of the clinical picture TAM. However, this is not enough for the development of AML. It is assumed that its development is based on a third mutation (the third "hit"). Mutations in the *JAK2*, *JAK3*, *TP53*, *FL3* genes or their combination are considered as possible



Презентация данного синдрома чаще всего происходит в первые дни жизни (медиана – 36 дней). По данным литературы, возможно обнаружение клинко-гематологических проявлений ТАМ внутриутробно, начиная с 21-й недели гестации, иногда это может приводить к внутриутробной гибели плода [10]. Клинические проявления варьируют от бессимптомного ТАМ до клинически выраженного, обусловленного лейкемической инфильтрацией органов. Наиболее частыми клиническими проявлениями считаются гепатоспленомегалия, желтуха, неспецифическая сыпь, плевральный/перикардиальный выпот, асцит, почечная недостаточность; гематологическими – лейкоцитоз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево до бластных клеток, нейтрофилез, тромбоцитопения, у некоторых пациентов отмечаются базофилия и эозинофилия, а также анемия, коагулопатия [11–13]. Необходимо отметить, что нет специфических для ТАМ гематологических признаков, за исключением количества бластных клеток в периферической крови – 20% и более, что всегда коррелирует с мутацией в гене *GATA1*.

Клинически выраженный ТАМ развивается у 10–30% пациентов [1].

Примерно у 20% новорожденных, имеющих трисомию 21-й хромосомы и характерную мутацию в гене *GATA1*, нет ни клинических, ни гематологических проявлений ТАМ – так называемый «молчащий» ТАМ [3].

Ретроспективные исследования показывают, что в большинстве случаев при естественном течении классический ТАМ спонтанно разрешается в течение нескольких недель/месяцев после рождения. Соответственно, дети, имеющие подтвержденный диагноз ТАМ, нуждаются в наблюдении и симптоматическом лечении [2, 14]. Однако у небольшого числа пациентов (15–20%, по данным различных источников) ТАМ протекает с тяжелыми клиническими проявлениями, и около 10% из них умирают, главным образом, от печеночной и мультиорганной недостаточности [9, 15].

Цель исследования: провести ретроспективный анализ клинических случаев с установленным диагнозом «транзиторный аномальный миелопоэз».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данной статье представлено описание 6 клинических случаев ТАМ, выявленных в период с 2012 по 2019 г. в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Характеристика пациентов представлена в таблице.

Всем детям диагноз был установлен в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева на основании данных анамнеза, лабораторных исследований и клинических проявлений заболевания.

Соотношение мальчики-девочки составило 2:1. Медиана возраста на момент выявления первых клинических или гематологических проявлений – 13 дней (от 1 дня до 1 месяца). Четыре пациента были госпитализированы в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева непосредственно с проявлениями ТАМ, двоим данный диагноз установлен ретроспективно.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У всех пациентов отмечались те или иные клинические проявления ТАМ:

- 1) гепатоспленомегалия (66%), изолированная гепатомегалия (83%);
- 2) анемический синдром (33%), выраженный бледностью, слабостью, вялостью;
- 3) геморрагический синдром был представлен петехиальной сыпью (33%), частыми носовыми кровотечениями (16%);
- 4) желтуха была выявлена у 2 пациентов;

Таблица
Характеристика пациентов
Table
Characteristics of the patients

Параметр Parameter	Пол пациентов Gender of patients					
	мальчик male	девочка female	девочка female	мальчик male	мальчик male	мальчик male
Возраст дебюта Age of debut	10 дней 10 days	1 день 1 day	8 дней 8 days	1 месяц 1 month	С первого месяца жизни – клинические проявления, первый общий анализ крови – в 1,5 года Clinical presentation has been since first month of life, first blood count has been at 18 month	1 день 1 day
Возраст постановки диагноза Age of diagnosis	25 дней 25 days	Ретроспективно в 1 год 1 year, in retrospect	2,5 месяца 2,5 months	2 месяца 2 months	Ретроспективно в 1 год 9 месяцев 1 year 9 months, in retrospect	3 месяца (НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева) 3 months
Диагноз при поступлении Diagnosis for admission	Врожденный лейкоз Congenital leukemia	Синдром Казабаха–Мерритта Kasabach-Merritt syndrome	Острый лейкоз Acute leukemia	Острый лейкоз Acute leukemia	Острый лейкоз Acute leukemia	ОМЛ, М7-вариант Acute leukemia (AMKL)
Клинические проявления Clinical presentation						
Печень Liver	+3 см +3 sm	+2–3 см +2–3 sm	+5 см +5 sm	+4 см +4 sm	+2 см +2 sm	+8 см +8 sm
Селезенка Spleen	+1 см +1 sm	Не увеличена normal	+5 см +5 sm	+5 см +5 sm	+2 см +2 sm	+5 см +5 sm
Анемический синдром Anemic syndrome	–	–	–	+	+	–
Геморрагический синдром Hemorrhagic syndrome	–	–	–	–	Экхимозы, петехиальная сыпь, носовые кровотечения Ecchymosis, purpura, nasal bleedings	Петехиальная сыпь Purpura
Желтуха Jaundice	+	–	–	+	–	–
Выпоты Effusions	Перикардальный Pericardial	–	–	–	–	–
Гематологические проявления Hematological features						
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ (максимум) WBC, $\times 10^9/\text{l}$ (max)	61	52	36	6,3	2,85	320
Бластные клетки в периферической крови, % (максимум) Blast cells in peripheral blood, % (max)	67	–	66	36	9	80
Гемоглобин, г/л HGB, g/l	142	208	85	79	104	90
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$ (минимум) PLT, $\times 10^9/\text{l}$ (min)	39	8	23	104	130	47
Бластные клетки в костном мозге, % Blast cells in bone marrow, % (max)	80	Инициально исследование не проводилось Not performed	42	24	В дебюте заболевания исследование не проводилось Not performed in debut	89
Иммунофенотипирование (ИФТ) Flow Cytometry	ОМЛ, М7-вариант AMKL	–	ОМЛ, М7-вариант с коэкспрессией CD2 AMKL	ОМЛ, М7-вариант AMKL	В дебюте заболевания исследование не проводилось Not performed in debut	ОМЛ, М7-вариант AMKL

Трисомия 21 Trisomy 21	+	+	Мозаичная форма синдрома Дауна, бластный клон с трисомией 21 Mosaic form of Down syndrome – blast clone with trisomy 21	+	+	+
<i>GATA1</i>	Мутация в экзоне 2 Mutation in exon 2	Мутация в экзоне 2 (в отсортированной мегакариобластной популяции) Mutation in exon 2 (in sorted megakaryoblastic population)	Мутация в экзоне 2 Mutation in exon 2	Исследование не проводилось по техническим причинам Not performed	Мутаций не обнаружено Not performed	Исследование не проводилось по техническим причинам Not performed
Терапия Therapy	Не проводилась Not performed	Не проводилась Not performed	Не проводилась Not performed	Не проводилась Not performed	Не проводилась Not performed	Цитозар (20–40 мг/м ²) в течение 10 дней (по месту жительства) Cytarabine (20–40 mg/m ² /day) – 10 days
Динамика Development	К 45-му дню жизни – нормализация показателей гемопоэза The blood test returned to normal on the 45 th day of life	Лейкоцитоз разрешился в течение нескольких недель, однако сохранялись двухростковая цитопения (тромбоцитопения и анемия) и гепатомегалия в течение года WBC level returned to normal after 2 weeks, anemia and thrombocytopenia occurred during year	К 4 месяцам – восстановление нормального гемопоэза The blood test returned to normal in 4 months	В возрасте 2,5 месяца – восстановление нормального гемопоэза, нивелирование клинических проявлений The blood test returned to normal in 2.5 months	Поступил в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в возрасте 1,5 года с интоксикационным, геморрагическим синдромом. По результатам обследований данных за гемобластоз не получено. Выписан для наблюдения по месту жительства In 1.5 years diagnosis "Acute leukemia" excluded according to medical examination	Первоначально был поставлен диагноз ОМЛ, М7-вариант, проводилось лечение низкими дозами цитозара. Поступил в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, где на основании динамики заболевания к 3 месяцам отмечено нивелирование бластных клеток в костном мозге и периферической крови, сокращение печени и селезенки, был поставлен диагноз ТАМ, специфической терапии не проводилось Initial diagnosis – AMKL, therapy – low-dose cytarabine. After hospitalization in Dmitriy Rogachevs Center treatment was not performed. The blood test returned to normal in 3 month
Исход Conclusion	Данных за развитие ОМЛ нет. Период наблюдения – 9 мес Leukemia was not developed, monitoring period is 9 month	В возрасте 1 года на фоне прежних проявлений – бластные клетки в периферической крови (2%), в миелограмме – бластные клетки 19,5%, по данным ИФТ – ОМЛ, М7-вариант. Отмечено становление острого лейкоза на фоне неполного разрешения проявлений ТАМ. Терапия по протоколу ML-DS-2006. Достигнута ремиссия In 1 year blast cells appeared in peripheral blood (2%) and bone marrow (19.5%). Diagnosis – AMKL. Treatment was carried out according to ML-DS-2006. Remission was achieved	В возрасте 10 месяцев – ухудшение соматического состояния. В гемограмме – лейкоциты $8,8 \times 10^9/\text{л}$, тромбоциты $18 \times 10^9/\text{л}$, гемоглобин 84 г/л, бластные клетки 12%. В миелограмме 39/44% бластных клеток. Установлен диагноз ОМЛ, М7-вариант. Терапия по протоколу ML-DS-2006. Достигнута ремиссия Somatic status deteriorated in 10 month, in blood count – WBC $8,8 \times 10^9/\text{L}$, PLT $18 \times 10^9/\text{L}$, HGB 84 g/L, blast cells 12%. 39/44% blast cells in bone marrow. Diagnosis – AMKL. Treatment was carried out according to ML-DS-2006. Remission was achieved	Данных за развитие ОМЛ нет. Период наблюдения – 5 лет Leukemia was not developed, monitoring period is 5 years	В возрасте 1,9 года – бластные клетки в периферической крови 73%, в костном мозге – 96,0%. ИФТ – ОМЛ, М7-вариант. Терапия по протоколу ML-DS-2006. Достигнута ремиссия In 1.9 years blast cells appeared in peripheral blood (73%) and bone marrow (96%). Diagnosis – AMKL. Treatment was carried out according to ML-DS-2006. Remission was achieved	Данных за развитие ОМЛ нет. Период наблюдения – 5 лет Leukemia was not developed, monitoring period is 5 years

Notes. WBC – white blood cell; AMKL – acute megakaryoblastic leukaemia; PLT – platelets; HGB – Hemoglobin.

5) у 1 пациента был отмечен незначительный перикардальный выпот.

Из гематологических проявлений были отмечены следующие:

1) лейкоцитоз (66%) с максимальным значением лейкоцитов $320 \times 10^9/\text{л}$;

2) бластные клетки в периферической крови определялись у 4 пациентов, у 2 больных исследование в дебюте не проводилось;

3) снижение уровня гемоглобина ниже возрастной нормы зафиксировано у 4 (66%) пациентов;

4) у 100% пациентов определялось снижение уровня тромбоцитов, минимально до $8 \times 10^9/\text{л}$;

5) в миелограмме (исследование костного мозга было проведено 4 пациентам) во всех случаях количество бластных клеток составляло более 20%, максимально 89%. ИФТ костного мозга во всех случаях был установлен М7-вариант острого миелобластного лейкоза (ОМЛ) (рисунк 2).

Всем пациентам проведено кариотипирование, у 5 установлен диагноз «синдром Дауна», у 1 больного подтверждена мозаичная форма синдрома Дауна. У всех пациентов клон бластных клеток имел трисомию 21-й хромосомы.

Исследование мутаций в гене *GATA1* проводилось 4 пациентам (2 больным исследование не проводилось по техническим причинам), у всех обнаружена мутация исследуемого гена в экзоне 2. Стоит отметить, что у 2 пациентов мутация обнаружена не с первого раза, у 1 из них – в специально отсортированной бластной популяции. Исследование проводилось методом фрагментного анализа.

У 4 пациентов была выявлена комбинация трисомии 21-й хромосомы и мутации в гене *GATA1*, остальным пациентам диагноз поставлен на осно-

вании наличия синдрома Дауна, клинико-гематологических проявлений и характерного для данного синдрома их спонтанного регресса.

Таким образом, из 6 пациентов:

- у 4 (№1, 3, 4, 6) отмечено полное разрешение всех клинико-гематологических проявлений ТАМ в течение нескольких месяцев (средний возраст разрешения ТАМ составил 11 недель: минимальный – 6 недель, максимальный – 16 недель). При этом 3 пациента не получали специфической терапии, 1 (№6) получал лечение низкими дозами цитозара по месту жительства. В дальнейшем у пациентки №3 в возрасте 10 месяцев отмечено развитие ОМЛ, М7-вариант («светлый» промежуток от купирования симптомов ТАМ до становления лейкоза составил 6 мес); проведено лечение по протоколу ML-DS-2006, достигнута ремиссия. У остальных пациентов на момент написания статьи данных за развитие лейкоза нет, период наблюдения для пациента №1 составляет 9 мес, для пациентов №4, 6 – более 5 лет;

- у 2 (№2, 5) полного разрешения симптомов не наблюдалось, заболевание протекало по типу миелодиспластического синдрома, и в возрасте 12 и 21 месяцев соответственно зафиксировано становление лейкоза (в обоих случаях ОМЛ, М7-вариант). Оба пациента прошли лечение по протоколу ML-DS-2006, достигнута ремиссия.

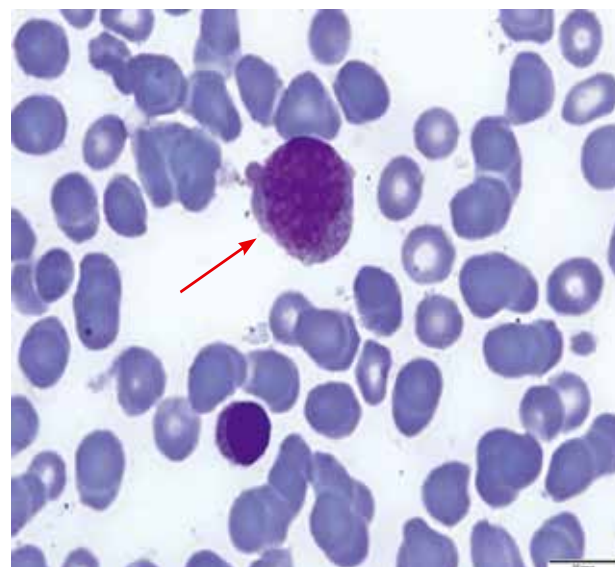
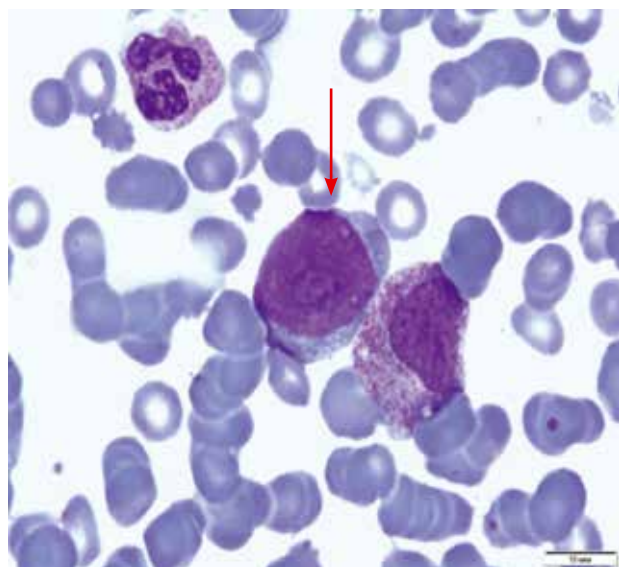
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Во всех представленных нами клинических случаях изначально диагноз был установлен неверно. Трудности диагностики данного синдрома связаны как с достаточно частой неосведомленностью врачей (новорожденным с характерными клинико-гематоло-

Рисунок 2

Картина костного мозга у пациентки №2 к моменту развития ОМЛ. Стрелкой указаны анаплазированные мегакариобластные клетки

This is picture of bone marrow (patient №2) at the time of AML development. The arrow indicates anaplastic megakaryoblastic cells



гическими проявлениями устанавливается диагноз «острый лейкоз» и проводится агрессивное лечение, в котором зачастую нет необходимости, учитывая «транзиторность» данного состояния), так и со сложностью трактовки клинических и гематологических изменений, наблюдаемых у пациентов с синдромом Дауна [16]. Это связано с тем, что многие клинические и гематологические изменения могут встречаться у детей с синдромом Дауна как при наличии ТАМ, так и без его развития [9].

К сожалению, нет специфических гематологических критериев, за исключением повышенного содержания бластных клеток в периферической крови. В любом случае данный диагноз должен быть подтвержден молекулярно-генетическим исследованием, ведь основным критерием его установки является наличие совокупности трисомии 21-й хромосомы и мутации в гене *GATA1*. Однако и по данным литературы описаны случаи существования данного синдрома без характерной мутации [9], и в описанных нами клинических случаях для выявления мутации порой требовались сортировка бластной популяции и повторное исследование. С наибольшей вероятностью это может объясняться недостаточной чувствительностью используемых методов, а также наличием небольшого клона опухолевых клеток [17]. В наших случаях исследование проводилось методом фрагментного анализа. Данный метод позволяет выявить мутацию при наличии альтернативного варианта в более чем 1%, имеет большую чувствительность по сравнению с секвенированием по Сэнгеру. Наиболее высокочувствительным методом для выявления мутаций в гене *GATA1* является секвенирование нового поколения (next generation sequencing) [17], который, однако, в настоящее время не может служить рутинным методом, в первую очередь, из-за высокой стоимости исследования. Таким образом, при получении отрицательных результатов исследования гена *GATA1* диагноз ТАМ может быть установлен на основании характерных клинико-гематологических проявлений при наличии синдрома Дауна и характерной эволюции – спонтанного разрешения.

Большой интерес представляет трансформация ТАМ в ОМЛ. По данным литературы, примерно в 20% случаев после спонтанной регрессии ТАМ в возрасте до 5 лет развивается ОМЛ, М7-вариант по FAB-классификации [9]. В 25% случаев имеют место несколько мутантных клонов, и не оставляет сомнения тот факт, что лейкоз развивается

из того же клона, что и предшествующий ТАМ, так как в обоих случаях обнаруживается аналогичная мутация [6, 18]. У 1 из описанных нами пациентов (№3) произошла трансформация ТАМ в ОМЛ через 6 мес после купирования всех симптомов ТАМ. Также описаны случаи, в которых отсутствовал «светлый» промежуток между ТАМ и ОМЛ: при рождении у детей с синдромом Дауна наблюдались признаки ТАМ, мутация в гене *GATA1*, однако в течение 6 мес не происходило регресса данного состояния. В 2 из 6 описанных нами случаев в течение нескольких недель после рождения у пациентов купировались лейкоцитоз, бластоз; однако отмечалась стойкая персистирующая двухростковая цитопения разной степени выраженности (от незначительного снижения показателей до выраженной трансфузионной зависимости). В дальнейшем в возрасте от 12 до 21 месяца отмечался дебют острого лейкоза (во всех случаях – ОМЛ, М7-вариант). Все дети получали терапию по протоколу ML-DS-2006 с достижением полной клинико-гематологической ремиссии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ТАМ достаточно часто встречается у новорожденных с синдромом Дауна. Ввиду транзиторности процесса в большинстве случаев пациенты с доказанным ТАМ требуют лишь наблюдения и при тяжелом течении – симптоматической терапии. Наилучшим способом выявления пациентов группы риска является скрининг всех новорожденных с синдромом Дауна на наличие мутаций в гене *GATA1*. В дальнейшем пациенты группы риска (имеющие характерную мутацию в гене *GATA1*) должны находиться под динамическим наблюдением до 5-летнего возраста (так как в более позднем возрасте риск развития ОМЛ, ассоциированного с ТАМ, минимален).

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Klimentova M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1216-817X>

Chikvina I.I. ORCID: <http://orcid.org/0000-002-5067-8288>

Khachatryan L.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7265-0414>

Литература

1. Watanabe K. Recent advances in the understanding of transient abnormal myelopoiesis in Down syndrome. *Pediatr Int* 2019; 61 (3): 222–9. DOI: 10.1111/ped.13776
2. Tunstall O., Bhatnagar N., James B., Norton A., O'Marcaigh A.S., Watts T., et al. Guidelines for the investigation and management of Transient Leukaemia of Down Syndrome. *Br J Haematol* 2018; 182 (2): 200–11. DOI: 10.1111/bjh.15390
3. Yoshida K., Toki T., Okuno Y., Kanezaki R., Shiraishi Y., Sato-Otsubo A., et al. The landscape of somatic mutations in Down syndrome-related myeloid disorders. *Nat Genet* 2013; 45 (11): 1293–9. DOI: 10.1038/ng.2759
4. Nakashima M.O., Shetty S., Chicka M., Flagg A., Eng C., Cotta C.V. Transient abnormal myelopoiesis of a newborn not associated with chromosome 21 abnormalities or *GATA1* mutations. *Pediatr Blood Cancer* 2015; 62 (2): 353–5. DOI: 10.1002/pbc.25226
5. Mansini A.P. Mutation characterization in the *GATA-1* gene in patients with Down's Syndrome diagnosed with transient abnormal myelopoiesis or acute megakaryoblastic leukemia. *Arch Argent Pediatr* 2013; 111 (6): 532–6. DOI: 10.5546/aap.2013.532
6. Hoeller S., Bihl M.P., Tzankov A., Chaffard R., Hirschmann P., Miny P., et al. Morphologic and *GATA1* sequencing analysis of hematopoiesis in fetuses with trisomy 21. *Hum Pathol* 2014; 45 (5): 1003–9. DOI: 10.1016/j.humpath.2013.12.014
7. Queiroz L.B., Lima B.D., Mazzeu J.F., Camargo R., Córdoba M.S., Q. Magalhães I., et al. Analysis of *GATA1* mutations and leukemogenesis in newborns with Down syndrome. *Genet Mol Res* 2013; 12 (4): 4630–8. DOI: 10.4238 / 2013
8. Bhatnagar N., Nizery L., Tunstall O., Vyas P., Roberts I. Transient Abnormal Myelopoiesis and AML in Down Syndrome: an Update. *Curr Hematol Malig Rep* 2016; 11 (5): 333–41. DOI: 10.1007/s11899-016-0338-x
9. Roberts I., Izraeli S. Haematopoietic development and leukaemia in Down syndrome. *Br J Haematol* 2014; 167 (5): 587–99. DOI: 10.1111/bjh.13096
10. Yin L., Lovell M.A., Wilson M.L., Wei Q., Liang X. Distinct *GATA1* Point Mutations in Monozygotic Twins With Down Syndrome and Transient Abnormal Myelopoiesis From a Triplet Pregnancy: A Case Report and Review of Literature. *Am J Clin Pathol* 2016; 146 (6): 753–9. DOI: 10.1093/ajcp/aqw190
11. Falasco B.F., Durante B., Faria D.K., Faria C.S., Rosolen D.C.B., Antonangelo L. Transient abnormal myelopoiesis with pericardial effusion in Down syndrome: Case report. *Clin Case Rep* 2019; 7 (7): 1280–4. DOI: 10.1002/ccr3.2184
12. Li M.J., Lee N.C., Yang Y.L., Yen H.J., Chang H.H., Chien Y.H., et al. Long-term outcome for Down syndrome patients with hematopoietic disorders. *J Formos Med Assoc.* 2016; 115 (2): 94–9. DOI: 10.1016/j.jfma.2015.01.009
13. Roberts I., Fordham N.J., Rao A., Bain B.J. Neonatal leukaemia. *Br J Haematol* 2018; 182 (2): 170–84. DOI: 10.1111/bjh.15246
14. Rozen L., Huybrechts S., Dedeken L., Heijmans C., Dessars B., Heimann P., et al. Transient leukemia in a newborn without Down syndrome: case report and review of the literature, *Eur J Pediatr.* 2014; 173 (12): 1643–7. DOI: 10.1007/s00431-013-2163-8
15. Bomberly M., Vergilio J.A. Transient abnormal myelopoiesis in neonates: GATA get the diagnosis. *Arch Pathol Lab Med* 2014; 138 (10): 1302–6. DOI: 10.5858/arpa.2014-0304-CC
16. Corazza F., Astolfi A., Libri V., Franzoni M., Serravalle S., Alessandroni R., et al. Transient abnormal myelopoiesis in a phenotypically normal newborn with polyclonal trisomy 21. *Int J Hematol* 2014; 99 (6): 794–7. DOI: 10.1007 / s12185-014-1584-0
17. Federmann B., Fasan A., Kagan K.O., Haen S., Fend F. Transient abnormal myelopoiesis/acute megakaryoblastic leukemia diagnosed in the placenta of a stillborn Down syndrome fetus with targeted next-generation sequencing. *Leukemia* 2015; 29 (1): 232–3. DOI: 10.1038/leu.2014.258
18. Wilcock J., Devitt K., Gardner J.A. Transient Abnormal Myelopoiesis: A Clue to Trisomy 21. *J Assoc Genet Technol* 2019; 45 (2): 77–9.

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 21.12.2019
Принята к печати 06.03.2020

Контактная информация:

Абашидзе Залина Ахмедовна,
врач-гематолог боксированного отделения
гематологии/онкологии
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: zalina.abashidze@fccho-moscow.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-84-89

Особенности течения рецидивов и рефрактерных форм Т-лимфобластной лимфомы у детей

З.А. Абашидзе, Ю.Ю. Дьяконова, Н.В. Мякова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Лимфобластная лимфома (ЛБЛ) является быстро прогрессирующим злокачественным заболеванием из предшественников Т- и В-клеток. На долю лимфом из Т-клеток-предшественников (Т-ЛБЛ) приходится до 80% всех ЛБЛ. Несмотря на достаточно редкую встречаемость Т-ЛБЛ, рецидивирующее и рефрактерное течение данного заболевания представляет собой актуальную проблему. Программы терапии рецидивов и рефрактерных форм Т-ЛБЛ в настоящее время продолжают активно разрабатываться. Определяются роль и место таргетных препаратов в мультимодальной стратегии лечения рецидивов Т-ЛБЛ. Дальнейшие фундаментальные исследования направлены на преодоление лекарственной резистентности, изучение молекулярно-генетических механизмов, сигнальных путей опухолевой клетки, что позволит улучшить результаты лечения и выживаемость. В статье на примере клинического случая рассмотрены особенности течения рецидивов и рефрактерных форм Т-ЛБЛ у детей, а также возможные методы терапии. Родители дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: рецидив, Т-лимфобластная лимфома, сигнальные пути, выживаемость, прогноз, дети

Абашидзе З.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 84–89.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-84-89

Features of relapses and refractory forms of T-lymphoblastic lymphoma in children

Z.A. Abashidze, U.U. Dyakonova, N.V. Myakova

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

Lymphoblastic lymphoma (LBL) is a rapidly progressive, malignant disease from T and B progenitor cells. Lymphomas from T cell precursors (T-LBL) account for up to 80% of all LBLs. Despite the rather rare occurrence of T-LBL, the relapsing and refractory course of this disease is an actual problem. Programs for the treatment of relapses and refractory forms of T-LBL are currently being actively developing. The role and place of targeted drugs in the multimodal T-LBL relapse strategy is determined. Further fundamental research is aimed at overcoming drug resistance, studying the molecular genetic mechanisms, tumor cell signaling pathways, which will improve treatment outcomes and survival. Based on clinical case the authors will be considered information about the child, including photos, in the article.

Key words: relapse, T-lymphoblastic lymphoma, signaling pathways, survival, prognosis, children

Abashidze Z.A., et al. Features of relapses and refractory forms of T-lymphoblastic lymphoma in children. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 84–89.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-84-89

Неходжкинские лимфомы (НХЛ) представляют собой крайне гетерогенную группу злокачественных лимфопролиферативных заболеваний. На долю лимфобластных лимфом (ЛБЛ) приходится 25–30% всех случаев НХЛ у детей [1]. У подростков 15–19 лет ЛБЛ встречаются в 14–16% случаев. Мальчики болеют чаще, чем девочки [2].

ЛБЛ – редкое, быстро прогрессирующее, высоко агрессивное злокачественное заболевание из Т- и В-клеток-предшественников. До 80% ЛБЛ представляют лимфомы из предшественников Т-клеток (Т-ЛБЛ). Показатель заболеваемости Т-ЛБЛ у детей младше 15 лет составляет 0–4 случая на 100 000 населения, что превышает показатель у подростков и молодых взрослых в 4 раза. Частота встречаемости рецидивов и рефрактерных форм Т-ЛБЛ составляет до 16% [3].

При использовании современных программ терапии результаты долгосрочной общей выживаемости достигают 85–90% [4]. Однако при возникновении рецидива заболевания отмечается крайне

неблагоприятный прогноз, общая выживаемость достигает лишь 30% [3].

В данной статье рассмотрены особенности течения рецидивов и рефрактерных форм Т-ЛБЛ у детей, а также возможные методы терапии на примере клинического случая.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Родители дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях. Пациент А., 2013 г. р., в начале февраля 2018 г. родители обратили внимание на нарастающую вялость и слабость ребенка, повышение температуры тела, появление сухого надсадного кашля и отека лица. Положительного ответа на проводимую симптоматическую и антибактериальную терапию не отмечалось.

Спустя месяц при рентгенологическом исследовании органов грудной клетки (ОГК) выявлено значи-

тельное расширение тени средостения, в связи с чем ребенок госпитализирован в отделение гематологии по месту жительства. При мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) ОГК и брюшной полости выявлены образование средостения со сдавлением сосудов и трахеи, гиперплазия внутригрудных лимфоузлов, а также лимфоузлов брюшной полости и забрюшинного пространства.

07.03.2018 ребенок в тяжелом состоянии, с наличием дыхательной недостаточности, синдрома верхней полой вены (ВПВ) доставлен в отделение реанимации и интенсивной терапии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, переведен на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ). Результаты проведенного обследования: в биохимическом анализе крови выявлено повышение лактатдегидрогеназы до 443 Ед/л, по данным МСКТ шеи, ОГК и органов брюшной полости: утолщение стенок гортани (инфильтрация(?), отек(?)), отек мягких тканей шеи, грудной стенки; объемное образование средостения (75 × 75 × 102 мм) с распространением в нижние отделы шеи, сдавлением ВПВ (рисунки 1); увеличение лимфоузлов шеи, аксиллярных областей, забрюшинного пространства живота, таза, брюшной полости, паховой области, начальные признаки интерстициального отека легких; минимальный правосторонний гидроторакс, гидроперикард, гепатомегалия; локальные расширения перипортальных пространств (вероятно, специфического генеза).

Миелограмма: содержание бластных клеток с морфологическими чертами лимфоидной линии дифференцировки составляет 6,8% в точке 1, 7,6% в точке 2, 4,8% в точке 3 и 7,2% в точке 4.

Иммунофенотипирование клеток костного мозга: иммунофенотип бластной популяции соответствует острому лимфобластному лейкозу (ОЛЛ), T2-вариант с коэкспрессией CD13, CD33, CD79a.

Таким образом, ребенку был установлен диагноз: Т-ЛБЛ с коэкспрессией CD13, CD33, CD79a с поражением средостения, лимфоузлов шеи, аксиллярных областей, забрюшинного пространства живота, таза, брюшной полости, паховой области, костного мозга, IV стадия.

Специфическая терапия по протоколу ЛБЛ-2014 начата 07.03.2018. Схематично проводимое специфическое лечение представлено на рисунке 2.

Проведена циторедуктивная фаза с дополнительным введением циклофосфана и цитозара (по 200 мг/м² в течение 2 дней) в целях купирования синдрома ВПВ; первая фаза протокола I: преднизолон 60 мг/м²/сут в/в, винкристин 1,5 мг/м²/сут в/в, даунорубицин 30 мг/м²/сут в/в, кидролаза 10 000 МЕ/м²/сут в/в, метотрексат 12 мг интратекально, терапию перенес удовлетворительно.

Рисунок 1

МСКТ: утолщение стенок гортани, отек мягких тканей шеи, грудной стенки; объемное образование средостения (75 × 75 × 102 мм) с распространением в нижние отделы шеи, сдавлением ВПВ

Figure 1

MSCT: thickening of the larynx, swelling of the soft tissues of the neck, chest; volumetric formation of the mediastinum (75 × 75 × 102 mm) which spreads to the lower parts of the neck, with compression of the vena cava superior



На 33-и сутки протокола I проведено контрольное обследование: по данным МСКТ ОГК отмечено сокращение опухоли на 80% (до 49 × 45 × 57 мм), минимальная остаточная болезнь (minimal residual disease, MRD) костного мозга составила 0,085% (метод иммунофенотипирования). Таким образом, была констатирована парциальная ремиссия.

После завершения второй фазы протокола I (ЛБЛ-2014): 6-меркаптопурин (6-МР) 60 мг/м²/сут внутрь, циклофосфан 1000 мг/м²/сут в/в, цитозар 75 мг/м²/сут в/в, по данным МСКТ ОГК отмечалось дальнейшее сокращение размеров опухоли (до 19 × 29 × 50 мм).

Учитывая удовлетворительный ответ на проводимую терапию, в соответствии с протоколом ЛБЛ-2014 08.06.2018 начат протокол М: 6-МР 25 мг/м²/сут внутрь, метотрексат 5000 мг/м² – 4 «удара», метотрексат 12 мг интратекально. После завершения протокола М в интервале между этапами терапии появилась клиника бронхиальной обструкции с затруднением дыхания, «лающим» кашлем, при пальпации определялись образования в области шеи, яремной ямки.

По данным контрольного обследования на МСКТ ОГК (от 13.08.2018) отмечена отрицательная динамика за счет увеличения размеров объемного образования (конгломерат вилочковой железы, лимфоузлов всех групп) в средних и верхних отделах средостения и в передних отделах шеи, с увеличением размеров до 72 × 65 × 114 мм, объем образования увеличился в 18 раз (с 15 мл до 280 мл). В области шеи образование смещает трахею вправо и кпереди, сужая просвет трахеи до 7 мм.

На основании полученных результатов у ребенка констатирован очень ранний рецидив основного заболевания с поражением средостения, верхних отделов шеи.

Учитывая жизнеугрожающее состояние, обусловленное обструкцией дыхательных путей в резуль-

Рисунок 2

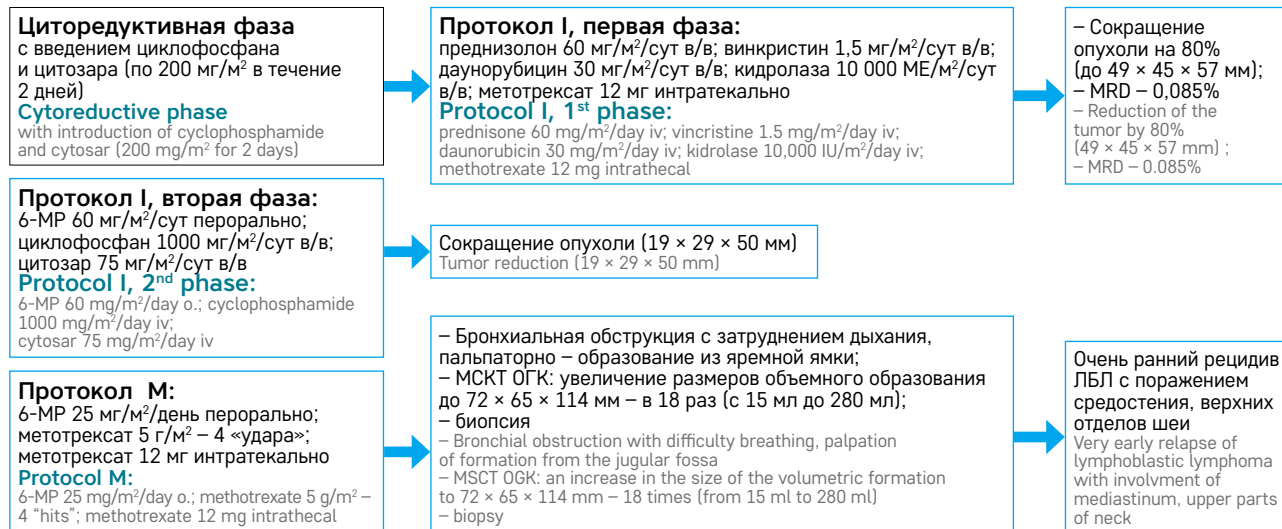
Схема проводимой терапии пациенту А. по протоколам ЛБЛ-2014 и ОЛП-РЕЦ-МБ 2016

Figure 2

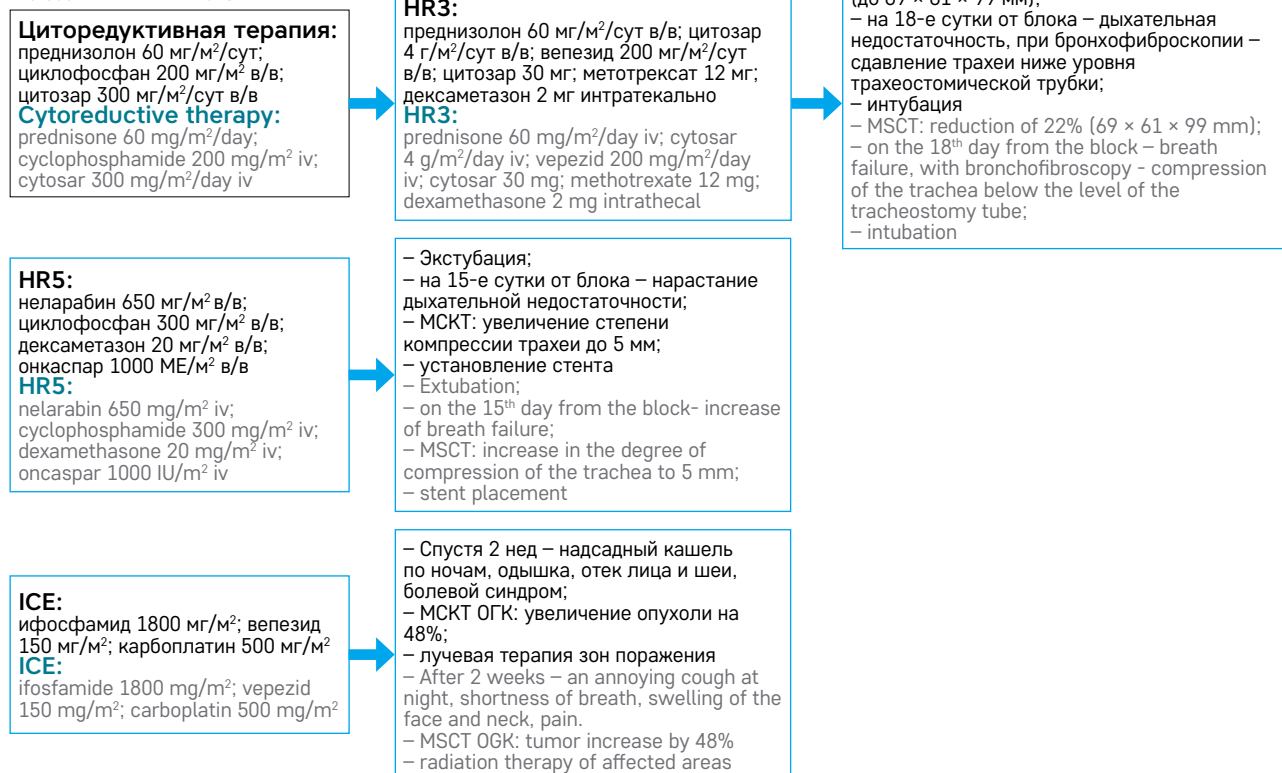
Schematic presentation treatment plan according protocols LBL-2014 and ALL-REZ-MB 2016

Протокол ЛБЛ-2014 6

Protocol LBL-2014

**Протокол ОЛП-РЕЦ-МБ 2016**

Protocol ALL-REZ-MB 2016



тате сдавления трахеи и бронхов опухолевой массой, прогрессивный рост опухоли, 13.08.2018 была начата циторедуктивная терапия – преднизолон 60 мг/м²/сут (рисунок 2). К терапии 15.08.2018 был добавлен циклофосфан 200 мг/м² в/в и 16.08.2018 – цитозар 300 мг/м²/сут в/в.

В целях верификации диагноза и проведения цитогенетического исследования 17.08.2018 была выполнена биопсия образования, которая позволила подтвердить Т-ЛБЛ. Учитывая дыхательные расстрой-

ства и высокий риск развития асфиксии, ребенку установлена трахеостома.

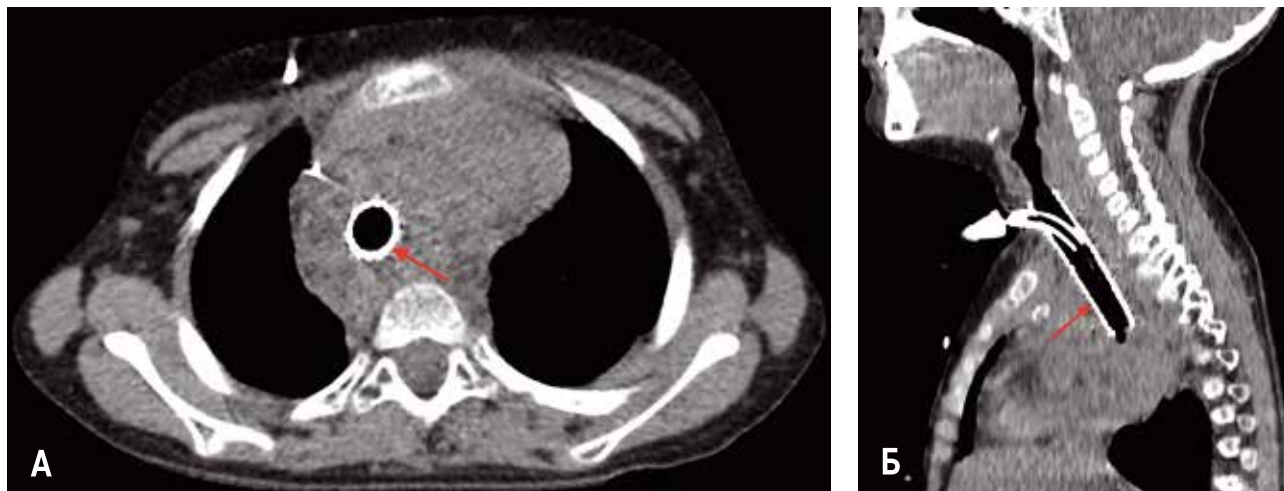
Следующим этапом ребенку решено провести блок с высокодозным цитозаром – HR3 (с 18.08.2018 по 23.08.2018): преднизолон 60 мг/м²/сут в/в, цитозар 4000 мг/м²/сут в/в, вепезид 200 мг/м²/сут в/в, введение триплета: цитозар 30 мг, метотрексат 12 мг, дексаметазон 2 мг интратекально. По окончании блока терапии отмечалась положительная динамика в виде уменьшения образования при осмотре и пальпа-

Рисунок 3

МСКТ: А – компрессия трахеи; Б – стент в нижней части трахеи

Figure 3

MSCT: A – compression of the trachea; Б – stent in the lower part of the trachea



торно, сокращения размеров опухоли по данным МСКТ на 22% (до 69 × 61 × 99 мм).

На 18-е сутки от блока HR3 (10.09.2018) у ребенка отмечено нарастание симптомов дыхательной недостаточности, при бронхофиброскопии обнаружено сдавление трахеи ниже уровня трахеостомической трубки. Ребенок был интубирован.

Следующим этапом было решено начать терапию 2-й линии и с 10.09.2018 начат блок HR5: неларабин 650 мг/м² в/в, циклофосфан 300 мг/м² в/в, дексаметазон 20 мг/м² в/в, онкаспар 1000 МЕ/м² в/в. Ребенок экстубирован 13.09.2018, возобновлено самостоятельное дыхание через трахеостому.

На 15-е сутки от начала блока HR3 у ребенка вновь наблюдается усиление дыхательной недостаточности: инспираторная одышка, ортопноэ, цианоз носогубного треугольника. По результатам МСКТ ОГК (от 24.09.2018) – увеличение степени компрессии трахеи до 5 мм (рисунок 3). Состояние ребенка крайне тяжелое, определен высокий риск развития асфиксии за счет нарастающего сдавления трахеобронхиального дерева ниже уровня стояния трахеостомы, в нижней части трахеи установлен стент.

В целях сокращения размеров опухоли с 24.09.2018 по 28.09.2018 проведен блок ICE: ифосфамид 1800 мг/м², вепезид 150 мг/м², карбоплатин 500 мг/м².

На фоне терапии достигнута стабилизация состояния, купированы проявления дыхательной недостаточности. Однако спустя 2 нед состояние вновь ухудшилось, появились надсадный кашель по ночам, отек лица и шеи, болевой синдром, отмечено нарастание одышки. По данным МСКТ (от 05.10.2018) – увеличение размеров опухоли на 48%. С 10.10.2018 с паллиативной целью инициирована лучевая терапия зон поражения, однако отмечалась дальнейшая

отрицательная динамика в виде нарастания дыхательной недостаточности, усугубления синдрома ВПВ. Ребенок 12.10.2018 был переведен в отделение реанимации и интенсивной терапии на ИВЛ.

На следующие сутки отмечено развитие фатальных нарушений ритма сердца (фибрилляции желудочков), неэффективность комплекса реанимационных мероприятий, констатирована биологическая смерть пациента.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе многочисленных дискуссий эксперты Всемирной организации здравоохранения пришли к мнению, что термин «лимфобластная лимфома» применяется в случаях, когда процесс ограничен экстрамедуллярными массами при отсутствии или минимальном поражении костного мозга и периферической крови. При преобладающем процессе в костном мозге (присутствие в пунктате более 20% бластных клеток) следует употреблять термин «острый лимфобластный лейкоз» [5].

В отличие от ОЛЛ для Т-ЛБЛ не сформированы строгие и единые прогностические факторы. По мнению некоторых авторов, лучший прогноз отмечается у детей младше 10 лет. Предикторами плохого прогноза являются III и IV стадии заболевания, а также поражение центральной нервной системы [3]. В то же время в работе R. Kobayashi и соавт. (2014) выживаемость пациентов с IV стадией оказалась даже выше, чем у детей с III стадией заболевания [6].

MRD и минимальная диссеминированная болезнь (minimal disseminated disease, MDD) также являются прогностическими факторами. В исследовании, проводимом Children's Oncology Group (COG), 2-летняя бессобытийная выживаемость (БСВ) у пациентов, уровень MDD которых составлял менее 1%,

достигла 91% в сравнении с 68% при MDD > 1% и 52% при MDD > 5% [7].

K. Michaux и соавт. опубликовали результаты сразу 2 мультицентровых исследований, выполненных с 1997 по 2008 г., охвативших 194 пациента, среди них 157 пациентов с Т-ЛБЛ. В этой группе больных у 23 пациентов отмечены рецидив или прогрессия заболевания: у 18 – с Т-ЛБЛ и у 5 – с ЛБЛ из предшественников В-клеток. Общая 8-летняя выживаемость составила 8,7% (умер 21 пациент из 23). Но главной находкой этого статистического анализа явилась выживаемость пациентов с рецидивом заболевания, развившимся в период интенсивной терапии, которая составила 0%. Средняя продолжительность от постановки диагноза до возникновения рецидива у детей с Т-ЛБЛ составила 9 мес. Терапия 2-й линии проведена 22 пациентам, однако ремиссия была достигнута только у 7 больных. У 10 из 22 пациентов проведена аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), у 4 из них произошел 2-й рецидив [8].

В связи с необходимостью поиска патогенетической терапии крайне важно изучение молекулярных основ заболевания.

Активация гена *NOTCH1* играет важную роль в патогенезе Т-ЛБЛ. В норме *NOTCH1* способствует дифференцировке Т-клеточной линии. Активирующая мутация *NOTCH1* приводит к активации гамма-секретазы, под действием которой происходит протеолиз внутренней поверхности гена, вследствие чего образуется активный протеин ICN1, который характеризуется антиапоптотическим эффектом. Также известно о регуляции *NOTCH1* нуклеарного фактора κB (NF- κB), являющегося одним из способов защиты опухолевой клетки от запрограммированной клеточной гибели [4].

По данным литературы, наличие мутации *NOTCH1* ассоциировано с лучшим прогнозом у детей с Т-ЛБЛ [3, 4]. Анализ французского исследования EuroLB02, в которое были включены 54 пациента с Т-ЛБЛ, показал значительное повышение БСВ и общей выживаемости у пациентов, имеющих мутацию в гене *NOTCH1* (96% и 53% соответственно). Схожие показатели отмечаются и при наличии мутации *NOTCH1/FBXW7* [9]. Другое масштабное исследование, включающее 241 больного с Т-ЛБЛ, получающих терапию по протоколу BFM, также продемонстрировало, что наличие мутации *NOTCH1/FBXW7* ассоциировано с благоприятным прогнозом [10]. Напротив, мутации в гене *PTEN* и делеция *LOH6q* ассоциированы с неблагоприятным прогнозом [3]. В работе S.T. Balbach и соавт. (2015) представлены данные, позволяющие полагать, что мутация в гене *PTEN* имеет неблагоприятный прогностический профиль, однако одновременное выявление мутаций в генах *NOTCH1* и *PTEN* повышает вероятность благоприятного исхода [11].

Программы лечения ЛБЛ из клеток-предшественников аналогичны применяемым при ОЛЛ, и 5-летняя БСВ составляет 85–90% [3, 8]. Тем не менее большую проблему представляют случаи рецидивов и рефрактерного течения заболевания.

В отличие от протоколов терапии 1-й линии, программы лечения рецидивов и рефрактерных форм не разработаны. В исследовании, выполненном COG, было продемонстрировано, что 5-летняя общая выживаемость больных с рецидивом НХЛ составляет 30% при проведении программы терапии 2-й линии DECALL (дексаметазон, этопозид, цисплатин, цитарабин, L-аспарагиназа) [12].

Одним из методов, на который возлагались большие надежды в терапии рецидивов и рефрактерных форм НХЛ, является высокодозная полихимиотерапия с ТГСК. Но, как показал опыт применения данного метода, результаты оказались неудовлетворительными. В исследовании COG было показано, что 3-летняя выживаемость пациентов с НХЛ при проведении высокодозной химиотерапии (циклофосфомид, этопозид, кармустин) с последующей аутологичной ТГСК составила 34% [13]. Что касается применения аллогенной ТГСК, то заслуживает внимания исследование T. Gross и соавт. (2010), основанное на анализе 53 пациентов с рефрактерным и рецидивирующим течением ЛБЛ, перенесших ТГСК. БСВ после аллогенной ТГСК оказалась в 10 раз выше, чем после аутологичной ТГСК [14].

В целях возможного повышения эффективности терапии в программы лечения стали включаться новые цитостатические агенты. Одним из препаратов, обладающих повышенной цитотоксической активностью в отношении Т-клеток, стал неларабин (9- β -d-арабинофуранозилгуанин), который в результате деметилирования превращается в активный метаболит. Дальнейшая биотрансформация происходит с образованием Ага-GTP, который блокирует синтез ДНК, за счет чего реализуется программа клеточной гибели [15]. В ряде экспериментальных работ было показано, что Ага-GTP более активно накапливается в Т-клетках, чем в В-клетках. Применение неларабина при лечении рецидивов и рефрактерных форм Т-ЛБЛ позволило достичь полной ремиссии лишь в 13% случаев [16].

Еще одним препаратом, относящимся к группе аналогов нуклеотидов, является клофарабин, включение которого в программы терапии рецидивов и рефрактерных форм ЛБЛ проходит вторую фазу клинических исследований [17].

Мишенью для таргетного воздействия стал протеасомный комплекс в опухолевой клетке. Функции протеасомы заключаются в убиквитин-зависимой деградации белков, участвующих в процессах ангиогенеза, апоптоза, регуляции клеточного цикла. Ингибитор протеасом бортезомиб стал применяться в лечении рецидивов ОЛЛ и НХЛ у детей с 2010 г. Борте-

зомиб блокирует протеасомы и подавляет активность циклин-зависимых киназ блокированием NF- κ B [16, 18].

Наличие на клетках опухоли антигена CD52 позволяет рассматривать возможность использования моноклонального анти-CD52-антитела – алемтузумаба – в терапии Т-ЛБЛ [19].

В настоящее время вторую фазу клинических исследований проходят ингибиторы гамма-секретазы. Они ингибируют сигнальный путь *NOTCH1* путем нарушения активации энзима гамма-секретазы, принимающей участие в образовании активного протеина ICN1, обладающего антиапоптотическим действием [4, 19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на достаточно редкую встречаемость Т-ЛБЛ, рецидивирующее и рефрактерное течение

данного заболевания представляет собой актуальную проблему. Особенности представленного случая являются быстрое развитие крупной крайне агрессивной опухоли средостения, приводящей к сдавлению трахеобронхиального дерева и асфиксии, хороший ответ на терапию 1-й линии, ранний рецидив и неэффективность последующей терапии с использованием блоков с неларабином, ICE.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Abashidze Z.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6314-2132>

Dyakonova U.U. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8725-7532>

Myakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

Литература

- Burkhardt B., Reiter A., Landmann E., Lang P., Lassay L., Dickerhoff R., et al. Poor outcome for children and adolescents with progressive disease or relapse of lymphoblastic lymphoma: A report from the Berlin-Frankfurt-Muenster group. *J Clin Oncol* 2009; 27 (20): 3363–9. DOI: 10.1200/JCO.2008.19.3367
- Румянцев А.Г., Масчан А.А., Жуковская Е.В. Федеральные клинические рекомендации. Детская гематология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015.
- Burkhardt B., Mueller S., Khanam T., Perkins S.L. Current status and future directions of T-lymphoblastic lymphoma in children and adolescents. *Br J Haematol* 2016; 173 (4): 545–59. DOI: 10.1111/bjh.14017
- El-Mallawany N.K., Frazer J.K., Van Vlierberghe P., Ferrando A. A., Perkins S., Lim M., et al. Pediatric T-and NK-cell lymphomas: New biologic insights and treatment strategies. *Blood Cancer J* 2012; 2(4): e65. DOI: 10.1038/bcj.2012.8
- T-lymphoblastic lymphoma. World Health Organization (WHO), 2017.
- Kobayashi R., Takimoto T., Nakazawa A., Fujita N., Akazai A., Yamato K., et al. Inferior outcomes of stage III T lymphoblastic lymphoma relative to stage IV lymphoma and T-acute lymphoblastic leukemia: long-term comparison of outcomes in the JACLS NHL T-98 and ALL T-97 protocols. *Int J Hematol* 2014; 99 (6): 743–9. DOI: 10.1007/s12185-014-1585-z
- Kobrinisky N.L., Sposto R., Shah N.R., Anderson J.R., De Laat C., Morse M., et al. Outcomes of treatment of children and adolescents with recurrent non-Hodgkin's lymphoma and Hodgkin's disease with dexamethasone, etoposide, cisplatin, cytarabine, and l-asparaginase, maintenance chemotherapy, and transplantation: Children's Cancer Group Study CCG-5912. *J Clin Oncol* 2001; 19(9): 2390–6.
- Michaux K., Bergeron C., Gandemer V., Mechinaud F., Uyttebroeck A., Bertrand Y.; SFCE and the EORTC children leukemia group. Relapsed or Refractory Lymphoblastic Lymphoma in Children: Results and Analysis of 23 Patients in the EORTC 58951 and the LMT96 Protocols. *Pediatr Blood Cancer* 2016; 63(7): 1214–21. DOI: 10.1002/pbc.25990
- Callens C., Baleyrier F., Lengline E., Ben Abdelali R., Petit A., Villarese P., et al. Clinical Impact of NOTCH1 and/or FBXW7 Mutations, FLASH Deletion, and TCR Status in Pediatric T-Cell Lymphoblastic Lymphoma. *J Clin Oncol* 2012; 30(16): 1966–73. DOI: 10.1200/JCO.2011.39.7661
- Bonn B.R., Rohde M., Zimmermann M., Krieger D., Oschlies I., Niggli F., et al. Incidence and prognostic relevance of genetic variations in T-cell lymphoblastic lymphoma in childhood and adolescence. *Blood* 2013; 121(16): 3153–60.
- Balbach S.T., Makarova O., Bonn B.R., Zimmermann M., Rohde M., Oschlies I., et al. Proposal of a genetic classifier for risk group stratification in pediatric T-cell lymphoblastic lymphoma reveals differences from adult T-cell lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2016; 30 (4): 970–3. DOI: 10.1038/leu.2015.203.
- Kobrinisky N.L., Sposto R., Shah N.R., Anderson J.R., DeLaat C., Morse M., et al. Outcomes of treatment of children and adolescents with recurrent non-Hodgkin's lymphoma and Hodgkin's disease with dexamethasone, etoposide, cisplatin, cytarabine, and l-asparaginase, maintenance chemotherapy, and transplantation: Children's Cancer Group Study CCG-5912. *J Clin Oncol* 2001; 19(9): 2390–6.
- or relapsed lymphoma: results of Children's Oncology Group Study A5962. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17(2): 249–58. DOI: 10.1016/j.bbmt.2010.07.002
- Gross T.G., Hale G.A., He W., Camitta B.M., Sanders J.E., Cairo M.S., et al. Hematopoietic stem cell transplantation for refractory or recurrent non-Hodgkin lymphoma in children and adolescents. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16(2): 223–30. DOI: 10.1016/j.bbmt.2009.09.021.
- Dunsmore K.P., Devidas M., Linda S.B., Borowitz M.J., Winick N., Hunger S.P., et al. Pilot study of nelarabine in combination with intensive chemotherapy in high-risk T-cell acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol* 2012; 30(22): 2753–9. DOI: 10.1200/JCO.2011.40.8724
- Валиев Т.Т. Клиническая характеристика и результаты терапии рецидивов/рефрактерных форм неходжкинских лимфом у детей: обзор литературы и анализ собственных данных. *Онкогематология* 2018; 13(2): 21–31. DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-2-21-31
- Cooper T.M., Razzouk B.I., Gerbing R., Alonzo T.A., Adlard K., Raetz E., et al. Phase I/II trial of clofarabine and cytarabine in children with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia (AAML0523): a report from the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer* 2013; 60(7): 1141–7. DOI: 10.1002/pbc.24398
- Dick L.R., Fleming P.E. Building on bortezomib: second-generation proteasome inhibitors as anticancer therapy. *Drug Discov Today* 2010; 15 (5–6): 243–9. DOI: 10.1016/j.drudis.2010.01.008
- Schmidt E., Burkhardt B. Lymphoblastic lymphoma in childhood and adolescence. *Pediatr Hematol Oncol* 2013; 30(6): 484–508. DOI: 10.3109/08880018.2013.789574

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 18.05.2020
Принята к печати 22.06.2020

Контактная информация:

Хаджиева Фатима Ризвановна,
врач-гематолог амбулаторного
отделения №3 консультативно-
диагностического центра
ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ»
Адрес: 119049, Москва,
4-й Добрынинский пер., 1/9
E-mail: fatima09876@bk.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-90-94

Сложности диагностики дефицита пируваткиназы

Ф.Р. Хаджиева¹, С.Н. Мушанова¹, Т.Н. Кекеева¹, И.Н. Лаврентьева¹, Е.В. Райкина²

¹ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Дефицит пируваткиназы является редкой врожденной несфероцитарной гемолитической анемией, вызванной дефектом гликолитического пути, вследствие компунд-гетерозиготных или гомозиготных мутаций в гене *PKLR*, расположенном на хромосоме 1q21. В статье представлен анализ литературных данных и разбор клинического случая дефицита пируваткиназы. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографии ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: дефицит пируваткиназы, гемолитическая анемия, *PKLR*

Хаджиева Ф.Р. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 90–94.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-90-94

Diagnostic challenges in pyruvate kinase deficiency

F.R. Khadzhieva¹, S.N. Mushanova¹, T.N. Kekeeva¹, I.N. Lavrentyeva¹, E.V. Raykina²

¹Morozov Children's City Clinical Hospital, Department of Health in Moscow, Moscow

²Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

Red cell pyruvate kinase deficiency is a rare congenital, nonspherocytic hemolytic anemia caused by a glycolytic defect that is due to compound heterozygous or homozygous mutations in the *PKLR* gene on chromosome 1q21. The article presents analytical review of literature and the clinical case of pyruvate kinase deficiency. Patient's parents agreed to use personal data and photos in research and publications.

Key words: pyruvate kinase deficiency, hemolytic anemia, *PKLR*

Khadzhieva F.R., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 90–94.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-90-94

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 18.05.2020

Accepted 22.06.2020

Correspondence:

Fatima R. Khadzhieva, Hematologist
of the Outpatient Department №3
of the Consultative and Diagnostic Center
of the Morozov Children's City Clinical
Hospital, Department
of Health in Moscow
Address: Russia, 119049, Moscow,
4th Dobryninskiy Per., 1/9
E-mail: fatima09876@bk.ru

Дефицит пируваткиназы (ПК) представляет собой редкую аутосомно-рецессивную наследственную гемолитическую анемию, вызванную мутациями в гене *PKLR*. Дефицит эритроцитарной ПК является наиболее частой причиной наследственной несфероцитарной гемолитической анемии, а также наиболее частой аномалией ферментов гликолитического пути. Ген *PKLR* кодирует ПК – гликолитический фермент, который катализирует трансфосфорилирование из фосфоенолпирувата в аденозиндифосфат с образованием пирувата и аденозинтрифосфата (АТФ), создавая 50% общего АТФ эритроцитов. Ген *PKLR* кодирует изоферменты печени и эритроцитов [1]. В настоящее время известно более 300 мутаций в гене *PKLR*.

По некоторым данным, распространенность заболевания составляет 1 на 20 000 белого населения [2]. Зарегистрировано в мире более 600 семей с наличием данной патологии. Среди больных преобладают жители Северной Европы. Зарегистрированных случаев меньше, чем прогнозировалось. Вероятно,

многие случаи дефицита ПК остаются недиагностированными [2].

Первое сообщение о дефиците ПК у 3 пациентов с врожденной несфероцитарной гемолитической анемией было опубликовано в 1961 г. W.N. Valentine и соавт. [3]. В 1962 г. K.R. Tanaka и соавт., наблюдая компенсированную гемолитическую анемию у молодых людей, которые были относительно недееспособными, высказали предположение о том, что отдельные аллели или даже гены в разных локусах являются основанием для клинической гетерогенности [4]. K. Tanі и соавт. (1987) и H. Satoh и соавт. (1988) картировали ген *PKLR* в хромосоме 1q21-q22 [5, 6]. Позднее начали появляться публикации с описанием различных генотипов у пациентов различных национальностей с наследственной несфероцитарной гемолитической анемией вследствие дефицита ПК эритроцитов.

У больных с дефицитом ПК снижается количество АТФ в эритроцитах и накапливаются продукты предшествующих этапов – фосфоенолпируват,

3-фосфоглицерат, а содержание пирувата и лактата снижается. В результате снижения концентрации АТФ нарушаются все энергозависимые процессы, в первую очередь работа Na^+K^+ -АТФазы, которая осуществляет транспорт ионов Na^+ из эритроцитов в плазму крови, препятствует накоплению Na^+ в эритроцитах и способствует сохранению геометрической формы эритроцитов (двояковогнутый диск). Лишенный глюкозы эритроцит деградирует, переходит в эхиноцит, сфероцит и затем подвергается осмотическому лизису, поскольку теряет способность поддерживать градиент натрия и калия [7, 8].

Клинические проявления при дефиците ПК разнообразны, в целом такие же, как и при любой другой гемолитической анемии. У некоторых людей в течение всей жизни анемия полностью компенсирована, а у других может наблюдаться тяжелая хроническая трансфузионно-зависимая анемия. Анемия имеет тенденцию к стабилизации во взрослом возрасте, однако усиление гемолиза происходит при острых инфекциях (60%), стрессах (29%) и беременности (51%) [2]. Некоторые пациенты анемию переносят хорошо, вероятно, из-за увеличения 2,3-дифосфоглицерата в эритроцитах, который снижает сродство гемоглобина к кислороду, что приводит к его усиленному поступлению в ткани – сдвигу кривой диссоциации оксигемоглобина вправо. R.F. Crace и соавт. описали 254 пациента с генетически подтвержденным дефицитом ПК, у которых наиболее распространенным осложнением являлась перегрузка железом (48%) [2]. Спленомегалия отмечалась у 80% пациентов. Однако отсутствие спленомегалии не исключает дефицит ПК. Апластические кризы наблюдались у 14% пациентов и были связаны с острой инфекцией. Чаще всего триггером гемолитического криза выступала парвовирусная инфекция B19, которая является цитотоксической для эритроидных предшественников. Большинство пациентов нуждались в заместительной терапии донорскими эритроцитами во время апластического криза. Как правило, криз купировался в течение 10 дней, но в некоторых случаях тяжелая анемия сохранялась более 1 мес. Образование камней в желчном пузыре отмечалось у 45% пациентов, что потребовало проведения холецистэктомии у 40% пациентов. Экстрамедуллярный гемопоэз был зарегистрирован у 9% пациентов. Очаги кроветворения выявлялись в печени, селезенке, паравертебральной области и средостении.

У 4 пациентов в возрасте от 27 до 42 лет были зарегистрированы трофические язвы нижних конечностей, что встречается и при других гемолитических анемиях. У 3% пациентов наблюдалась легочная гипертензия (средний возраст на момент постановки диагноза 39 лет). Из 254 пациентов 7% имели

тромбоз в анамнезе. Переломы костей отмечались у 17% больных [2].

У пациентов с дефицитом ПК в общем анализе крови отмечается снижение числа эритроцитов, концентрации гемоглобина, эритроцитарные индексы чаще не изменены, редко бывает увеличение среднего объема эритроцитов, возможно, за счет высокого ретикулоцитоза. Морфология эритроцитов часто ничем не примечательна, характерны анизоцитоз, пойкилоцитоз, склонность к макроцитозу, нередко наблюдаются эхиноциты 5–20%, количество которых может увеличиваться после спленэктомии. Отмечается ретикулоцитоз до 11% (норма 0–1%), который возрастает до 70% после спленэктомии.

Около половины пациентов имеют содержание ферритина сыворотки более 1000 мкг/л (норма 30–300 мкг/л), часто даже у тех, кто не нуждается в регулярных заместительных гемотрансфузиях.

Определение количественной активности ПК в эритроцитах является «золотым стандартом» для первоначальной диагностики ее дефицита. Для окончательного подтверждения диагноза в настоящее время необходимо проведение молекулярно-генетических исследований гена *PKLR*.

В литературе регулярно встречаются описания пациентов с дефицитом ПК, выявленным в результате ферментной диагностики, у которых в гене *PKLR* не наблюдается либо описана только одна мутация в гетерозиготном состоянии. При этом снижение активности ПК при отсутствии мутации в гене *PKLR* может быть связано с другими причинами, такими как мутация в гене *KLF1*. Мутация в гене *KLF1* вызывает тяжелую врожденную трансфузионно-зависимую гемолитическую анемию, характеризующуюся снижением количества ПК и стойким повышением фетального гемоглобина и сохранением эмбриональных гемоглобинов во взрослом возрасте [9–11].

На сегодняшний день отсутствуют клинические рекомендации по диагностике, ведению и мониторингу детей и взрослых с дефицитом ПК. В настоящее время лечение состоит из регулярных трансфузий донорских эритроцитов, хелаторной терапии и спленэктомии. R.F. Crace и соавт. описывают, что большинству зарегистрированных больных с дефицитом ПК была проведена спленэктомия (150 (59%) из 254), после которой у 90% пациентов отмечались уменьшение трансфузионной зависимости, повышение гемоглобина в среднем на 16 г/л [2]. Предикторами ответа на спленэктомию, по мнению авторов, были концентрация гемоглобина более 80 г/л и отсутствие выраженной гипербилирубинемии до спленэктомии. Постспленэктомический сепсис наблюдался у 7% пациентов. В анамнезе у спленэктомизированных больных наблюдалось повышение частоты тромбозов (17 (11%) из 150) в сравнении с

когортой пациентов, которые не были спленэктомированы.

Было установлено, что у пациентов с дефицитом ПК спленэктомия не уменьшает риск образования камней в желчном пузыре и после нее остается угроза развития желчекаменной болезни. Однако даже при отсутствии камней в желчном пузыре, учитывая 50% вероятность поздней холецистэктомии, необходимо рассмотреть вопрос об одновременной сплено- и холецистэктомии у всех пациентов с дефицитом ПК. Из 121 пациента, перенесшего спленэктомию без предварительной или одновременной холецистэктомии, 58 (48%) больным холецистэктомия потребовалась в более позднее время [2]. Таким образом, было сделано заключение о том, что спленэктомия показана только при развитии гиперспленизма и выраженной спленомегалии с угрозой разрыва селезенки.

В настоящее время трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) используется для лечения пациентов с тяжелым гемолизом. Первый случай проведения ТГСК описан в 2000 г. (мальчику в возрасте 5 лет от HLA-идентичной сестры с нормальной активностью ПК) с восстановлением активности ПК и нормализацией гемограммы [12]. В 2018 г. был опубликован отчет о 16 пациентах с дефицитом ПК, перенесших ТГСК в странах Европы и Азии. В этой когорте пациентов применялись разные режимы кондиционирования и стратегии ведения больных. Полученные результаты свидетельствуют о 74% кумулятивной выживаемости и высокой частоте реакции «трансплантат против хозяина», особенно у пациентов, которым на момент лечения было более 10 лет. Учитывая применение различных типов доноров, режимов кондиционирования и отличия в проведении сопроводительной терапии, наиболее эффективный и безопасный трансплантационный режим у пациентов с дефицитом ПК пока не ясен. Соотношение риска и пользы остается неизвестным [13].

На сегодняшний день активно изучают соединение, называемое митапиватом (AG-348), которое, являясь аллостерическим активатором, повышает активность ПК во всех клетках больных, при этом концентрация гемоглобина повышается более чем на 10 г/л в среднем через 10 дней от начала приема. Также отмечено повышение содержания АТФ (в среднем в 1,5 раза), что позволяет предположить возможность восстановления активности гликолитического пути. Однако вероятность ответа на терапию данной молекулой зависит от генотипа заболевания, т. е. наличия белка ПК в эритроцитах больных. Первоначальные исследования показали, что пероральное введение дважды в день может быть эффективным и хорошо переносимым [14, 15].

В России дефицит ПК эритроцитов мало изучен, в связи с чем приводим наше клиническое наблюдение.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Родители дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Мальчик А., от 3-й беременности, протекавшей с нарастанием антирезусных антител, в связи с чем вводили антирезусный иммуноглобулин, 2-х срочных родов путем операции «кесарево сечение». При рождении масса тела 3490 г, рост 50 см. В раннем неонатальном периоде отмечались иктеричность кожных покровов, гипербилирубинемия с приростом 10 мкмоль/ч. В связи с чем проведено частичное заменное переливание крови эритроцитарной взвесью. На 10-е сутки ребенок выписан домой в удовлетворительном состоянии. В возрасте 2 месяцев мальчик был госпитализирован в ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ» с жалобами на желтушный оттенок кожных покровов.

При поступлении в стационар общее состояние расценено как тяжелое за счет анемического синдрома. Наблюдалась выраженная иктеричность кожных покровов и видимых слизистых оболочек. Периферические лимфоузлы мелкие, безболезненные, подвижные, мягкоэластичной консистенции. Носовое дыхание свободное. В легких дыхание пузрильное, проводится во все отделы. Хрипов нет. Тоны приглушены, ритмичные. Пальпаторно печень у края реберной дуги, селезенка +1 см от края реберной дуги. Стул без патологических примесей. Мочевыделение свободное, безболезненное. Моча светлая.

По результатам лабораторного обследования была выявлена анемия III степени (гемоглобин 49 г/л, эритроциты $1,53 \times 10^{12}/л$), в мазке периферической крови выявлены единичные микросфероциты. Прямая реакция Кумбса отрицательная. В биохимическом анализе крови зафиксировано повышение концентрации общего билирубина до 46,4 мкмоль/л (норма 21,50 мкмоль/л), прямого билирубина до 9,6 мкмоль/л (норма 4,5 мкмоль/л), активности лактатдегидрогеназы до 599 Ед/л (норма до 480 Ед/л). По данным ультразвукового исследования органов брюшной полости печень и селезенка не увеличены.

Ребенку была проведена заместительная трансфузия эритроцитарной взвеси, что нормализовало содержание гемоглобина, клинические проявления гемолиза были купированы.

На основании данных семейного анамнеза (у бабушки по линии матери в течение всей жизни

наблюдается анемия, в детском возрасте проведена спленэктомия) и лабораторного обследования ребенка выставлен предварительный диагноз: наследственный микросфероцитоз.

В последующие годы у ребенка наблюдались гемолитические кризы 1 раз в 2–3 мес, сохранялась трансфузионная зависимость от донорских эритроцитов.

В 2016 г. в возрасте 1 года 11 месяцев при очередной госпитализации в связи с гемолитическим кризом в ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ»: в гемограмме – гемоглобин 75 г/л, эритроциты $2,46 \times 10^{12}$ /л, умеренный макроцитоз, анизоцитоз, ретикулоцитоз 8,6% (норма 0–2%); в биохимическом анализе крови – гипербилирубинемия за счет непрямой фракции 52,6 ммоль/л (норма до 16,5 ммоль/л), повышение активности лактатдегидрогеназы до 2005 Ед/л (норма до 480 Ед/л). Исследование фракций гемоглобина патологии не выявило (гемоглобин А 96,2%; гемоглобин А2 2,4%; гемоглобин F 1,5%), осмотическая резистентность эритроцитов: минимум 0,56, максимум 0,32 (норма: минимум 0,48–0,52, максимум 0,32–0,30), коэффициент связывания эозин-5-малемида эритроцитами – 1 (норма 0,8–1). Результаты обследования позволили усомниться в правильности предварительного диагноза.

В межгоспитальный период мальчик получал курсами фолиевую кислоту, альфа-токоферола ацетат, урсодезоксихолевую кислоту.

Во время очередной госпитализации в стационар (10.03.2019) в связи с гемолитическим кризом выявлено повышение концентрации ферритина сыворотки до 1055,8 мкг/л (норма 30–300 мкг/л), в связи с чем начата хелаторная терапия деферазироксом.

Учитывая, что по результатам проведенного обследования диагноз «наследственный микросфероцитоз» вызывал сомнения, в целях уточнения диагноза пациент был направлен в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России на генетическое обследование методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) ДНК с использованием панели «Гемолитические анемии», включающей 75 генов, мутации в которых приводят к развитию гемолитической анемии.

По результатам генетического обследования в гене *PKLR* обнаружено 2 патогенных генетических

варианта: NM_000298: c.1174G>A, p.(Ala392Thr) и c.1456C>T, p.(Arg486Trp), компаунд-гетерозиготное состояние которых подтверждено исследованием ДНК крови обоих родителей.

Исследование активности ПК в эритроцитах ребенка и отца выявило снижение активности: $7,51 \pm 0,08$ МЕ/г Hb и $7,99 \pm 0,17$ МЕ/г Hb соответственно (референсные значения $10,1 \pm 1,17$ МЕ/г Hb).

На основании полученных данных ребенку установлен диагноз: наследственная несфероцитарная гемолитическая анемия вследствие дефицита ПК.

В дальнейшем планируется динамическое наблюдение за ребенком, контроль клинического анализа крови 1 раз в 4–6 нед с проведением заместительной терапии эритроцитарной взвесью при гемолитических кризах, продолжение хелаторной терапии, профилактики желчнокаменной болезни и приема фолиевой кислоты.

В перспективе возможно применение препарата митапават (AG-348) после окончания клинических исследований и регистрации его в России.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленном случае перед спленэктомией для уточнения диагноза проведен молекулярно-генетический анализ, в результате которого выявлена мутация в гене *PKLR*, приводящая к недостаточности ПК. Это позволило правильно верифицировать диагноз и избежать запланированной спленэктомии, получить возможность консервативного лечения ребенка.

В данном случае проведение спленэктомии не было показано.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Khadzhieva F.R. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9081-5120>

Mushanova S.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4070-3064>

Kekeeva T.N. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4986-5748>

Lavrentyeva I.N. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2747-695X>

Raykina E.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7634-2053>

Литература

- Zanella A., Fermo E., Bianchi P., Valentini G. Red cell pyruvate kinase deficiency: molecular and clinical aspects. *Brit J Haemat* 2005; 130 (1): 11–25. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2005.05527.x
- Grace R.F., Bianchi P., van Beers E.J., Eber S.W., Glader B., Yaish H.M. et al. Clinical spectrum of pyruvate kinase deficiency: data from the Pyruvate Kinase Deficiency Natural History Study. *Blood* 2018; 131 (20): 2183–92. DOI: 10.1182/blood-2017-10-810796
- Valentine W.N., Tanaka K.R., Miwa S. A specific erythrocyte glycolytic enzyme defect (pyruvate kinase) in three subjects with congenital non-spherocytic hemolytic anemia. *Trans Assoc Am Physicians* 1961; 74: 100–10.
- Tanaka K.R., Valentine W.N., Miwa S. Pyruvate kinase (PK) deficiency hereditary nonspherocytic hemolytic anemia. *Blood* 1962; 19: 267–95.
- Tani K., Fujii H., Tsutsumi H., Sukegawa J., Toyoshima K., Yoshida M.C., et al. Human liver type pyruvate kinase: cDNA cloning and chromosomal assignment. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 143 (2): 431–8. DOI: 10.1016/0006-291x(87)91372-6
- Satoh H., Tani K., Yoshida M.C., Sasaki M., Miwa S., Fujii H. The human liver-type pyruvate kinase (PKL) gene is on chromosome 1 at band q21. *Cytogenet Cell Genet* 1988; 47: 132–3. DOI: 10.1159/000132530
- Румянцев А.Г., Токарев Ю.Н., Сметанина Н.С. Гемоглобинопатия и талассемические синдромы. М.: Практическая медицина; 2015. С. 94–104.
- Grace R.F., Zanella A., Neufeld E.J., Holmes Morton D., Eber S., Yaish H., et al. Erythrocyte pyruvate kinase deficiency: 2015 status report. *Am J Hematol* 2015; 90 (9): 825–30. DOI: 10.1002/ajh.24088
- Grace R.F., Mark Layton D., Barcellini W. How we manage patients with pyruvate kinase deficiency. *Br J Haematol* 2019; 184 (5): 721–34. DOI: 10.1111/bjh.15758
- Bianchi P., Fermo E., Glader B., Kanno H., Agarwal A., Barcellini W., et al. Addressing the diagnostic gaps in pyruvate kinase deficiency: Consensus recommendations on the diagnosis of pyruvate kinase deficiency. *Am J Hematol* 2019; 94 (1): 149–61. DOI: 10.1002/ajh.25325
- Viprakasit V., Ekwattanakit S., Rioueang S., Chalaow N., Fisher C., Lower K., et al. Mutations in Kruppel-like factor 1 cause transfusion-dependent hemolytic anemia and persistence of embryonic globin gene expression. *Blood* 2014; 123 (10): 1586–95. DOI: 10.1182/blood-2013-09-526087
- Tanphaichitr V.S., Suvatte V., Issaragrisil S., Mahasandana C., Veerakul G., Chongkolwatana V., et al. Successful bone marrow transplantation in a child with red blood cell pyruvate kinase deficiency. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26 (6): 689–90. DOI: 10.1038/sj.bmt.1702576
- van Straaten S., Bierings M., Bianchi P., Akiyoshi K., Kanno H., Badell Serra I., et al. Worldwide study of hematopoietic allogeneic stem cell transplantation in pyruvate kinase deficiency. *Haematologica* 2018; 103 (2): e82–6. DOI: 10.3324/haematol.2017.177857
- Rab M.A.E., van Oirschot B.A., Kosinski P.A., Hixon J., Johnson K., Chubukov V., et al. AG-348 (Mitapivat), an allosteric activator of red blood cell pyruvate kinase, increases enzymatic activity, protein stability, and ATP levels over a broad range of PKLR genotypes. *Haematologica* 2020; haematol.2019.238865. DOI: 10.3324/haematol.2019.238865
- Grace R.F., Rose C., Layton D.M., Galacteros F., Barcellini W., Morton H.D., et al. Safety and Efficacy of Mitapivat in Pyruvate Kinase Deficiency. *N Engl J Med* 2019; 381 (10): 933–44. DOI: 10.1056/NEJMoa1902678

Когда болезнь выходит за пределы кожи – изменения на коже могут быть признаком системного заболевания

Л.А. Хачатрян, Д.М. Николаева, А.П. Щербakov

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Инфантильная гемангиома может сопровождаться наличием мальформаций со стороны внутренних органов и сосудов. В 1996 г. было дано определение PHACE-синдрому как заболеванию, которое характеризуется ассоциацией сегментарной инфантильной гемангиомы с локализацией в области головы/шеи и наличием мальформаций в задней черепной ямке, аномалий крупных артериальных сосудов, включая коарктацию аорты, пороков сердца, а также пороков развития глаз и центральной нервной системы. В данной статье представлен клинический случай ребенка, которому PHACE-синдром был диагностирован в возрасте 1,5 месяца на основании наличия сегментарной гемангиомы, а также больших и малых критериев, характерных для данного заболевания. Кроме основных симптомов у ребенка имела место сопутствующая патология: синдром Вольфа–Паркинсона–Уайта. Лечение неселективными β -блокаторами и полихимиотерапия позволили купировать уже развившиеся и предотвратить возможные осложнения, связанные с данным синдромом. Родители дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: инфантильная гемангиома, сегментарная гемангиома, PHACE-синдром, β -блокаторы

Хачатрян Л.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 95–104.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-95-104

When the disease goes beyond the skin, changes in the skin can be a sign of systemic disease

L.A. Khachatryan, D.M. Nikolaeva, A.P. Shcherbakov

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Infantile hemangioma may be accompanied by malformations of internal organs and blood vessels. In 1996 PHACE syndrome was defined as a disease which is characterized by the association of segmental infantile hemangioma with localization in the head/neck region and the presence of malformations in the posterior cranial fossa, abnormalities of arterial blood vessels including coarctation of the aorta, heart defects, as well as malformations of the eyes and central nervous system. This article presents a clinical case of a child who was diagnosed this syndrome at the age of 1.5 months based on the presence of segmental hemangioma, as well as large and small criteria specific for this disease. In addition to the main symptoms, the child had an accompanying pathology: Wolff–Parkinson–White syndrome. Therapy with non-selective β -blockers and polychemotherapy allowed stopping already developed and prevent possible complications associated with this syndrome. Parents gave their consent to use information about the child, including fotos, in the article.

Key words: infantile hemangioma, segmental hemangioma, PHACE syndrome, β -blockers

Khachatryan L.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 95–104.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-95-104

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 28.05.2020
Принята к печати 22.06.2020

Контактная информация:

Хачатрян Лили Альбертовна, канд. мед. наук, заведующая боксированным отделением гематологии/онкологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: lili.2510@yandex.ru

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 28.05.2020
Accepted 22.06.2020

Correspondence:

Lili A. Khachatryan, cand. med. sci., Head of Box Department of Hematology/Oncology, Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation
Address: Russia, 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
E-mail: lili.2510@yandex.ru

Гемангиомы часто встречаются у детей, особенно на первом году жизни. Инфантильная гемангиома (ИГ) – это самая частая доброкачественная опухоль в педиатрии (частота встречаемости составляет 5–10%) и самая частая среди всех гемангиом [1]. ИГ чаще встречаются у девочек европейской расы (3:1), у недоношенных детей и, как правило, имеют спорадический характер [2]. ИГ возникают обычно после рождения и гистологически характеризуются пролиферацией эндотелиальных клеток (эта фаза длится 6–8 мес) с последующей фазой стабилизации и спонтанного регресса в течение последующих 8 лет жизни. Они могут быть кожными, подкожными или смешанными (состоять

из 2 составляющих: кожной и подкожной) с локализацией на различных участках тела, но с преимущественным расположением в области головы и шеи (60%) [3]. Как правило, гемангиомы изолированные (80% случаев) [3].

Несмотря на спонтанный регресс, наблюдающийся в 90% случаев, некоторые виды локализаций могут приводить к развитию осложнений (некроз и разрушение подлежащих тканей, изъязвление, кровоточивость) и требовать медицинского вмешательства либо указывать на возможность системных проявлений [2]. Последние встречаются при так называемых сегментарных ИГ, которые требуют особого внимания, так как представляют собой не только эсте-

тическую проблему, но и могут скрывать грубые функциональные изменения со стороны других органов и систем. Два недавно описанных синдрома ассоциированы с различными висцеральными аномалиями:

1. Синдром PELVIS/SACRAL (perineal angioma, external genital malformation, lipomyelomeningocele, vesicorenal abnormalities, imperforate anus, skin tag/spinal dysraphism, anogenital, cutaneous, renal and urologic malformation, angioma lombosacral) ассоциируется с наличием огромной гемангиомы пояснично-крестцовой области/перинеальной области с ано-генито-везико-ренальными и спинальными аномалиями.

2. Синдром PHACE/PHACES (posterior fosse abnormalities, hemangioma, arteries anomalies, coarctation aortic, eyes troubles/sternal malformations) ассоциируется с гигантской гемангиомой лица, неврологическими, кардиоваскулярными и окулярными аномалиями [4].

В нашей статье речь пойдет о PHACE-синдроме.

PHACE-синдром встречается редко: 1 на 1 000 000, что составляет 2–3% всех случаев ИГ со значимым преобладанием девочек (9:1). В литературе описано около 300 случаев [5].

Патогенез в настоящее время остается неизвестным. Предполагается, что данный синдром является результатом патологических процессов, развивающихся на этапе эмбриогенеза между 3-й и 12-й неделями гестации в период васкулогенеза, что приводит к формированию ИГ и мальформаций с одной и той же локализацией [6].

В настоящее время роль генетических аномалий в развитии данной патологии не доказана [7].

Первое описание этого синдрома было опубликовано в 1978 г. I. Pascual-Castroviejo [8]. В 1996 г. I.J. Frieden и соавт. ввели акроним PHACE (posterior fossa malformations, hemangioma, arterial anomalies, coarctation of the aorta/cardiac defects, and eye abnormalities), объединив в название самые частые симптомы [9].

В 2009 г. группой специалистов (дерматологи, онкологи, генетики, кардиологи, неврологи, офтальмологи) были установлены и подтверждены диагностические критерии PHACE-синдрома: большие и малые [10], которые затем, в 2016 г., были пересмотрены М.С. Garzon и соавт. (таблица 1, рисунок 1) [6].

Приведем краткую характеристику всех составляющих данного синдрома.

1. Гемангиомы, ассоциированные с PHACE-синдромом, отличаются большой протяженностью (более 5 см в диаметре) и диффузным характером, всегда являются только кожными, малорельефными и имеют сегментарное расположение.

Приблизительно 90% гемангиом при PHACE-синдроме выявляются на голове с преимущественной

локализацией на лицевой части черепа. Однако могут встречаться ИГ на волосистой части головы, в заушной области, а также в области шеи, верхней половине грудной клетки и проксимальных отделах верхней конечности [11].

A.N. Haggstrom и соавт. отметили наличие взаимосвязи между местом (сегментом) локализации ИГ на голове и частотой вовлечения тех или иных органов/систем в патологический процесс [12]. Было предложено условно разделить голову на 4 сегмента: лобно-височный, верхнечелюстной, нижнечелюстной и лобно-назальный (рисунок 2) [13, 14].

Рисунок 1

Схема с основными локусами поражения внутренних органов и систем [6]

Figure 1

Diagram of the main loci of internal organs and systems damage [6]

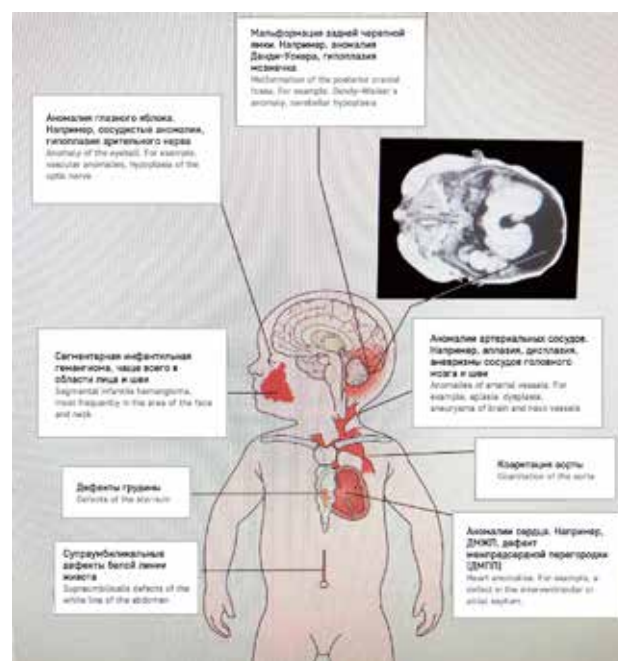


Рисунок 2

Условное сегментарное деление головы: 1 – лобно-височный; 2 – верхнечелюстной; 3 – нижнечелюстной; 4 – лобно-назальный [14]

Figure 2

Conditional segmental division of the head: 1 – frontal-temporal; 2 – maxillary; 3 – mandibular; 4 – frontal-nasal [14]



Таблица 1
Диагностические критерии PHACE-синдрома [6]

Table 1
Major and minor diagnostics criteria PHACE syndrome [6]

Системы/органы Systems/organs	Большие критерии Major criteria	Малые критерии Minor criteria
Артериальные аномалии Arterial anomalies	Аномалии большой церебральной или цервикальной артерии. Дисплазия крупных церебральных артерий. Артериальный стеноз или окклюзия с/без коллатералей мойя-мойя. Отсутствие или среднетяжелая форма гипоплазии больших церебральных или цервикальных артерий. Аберрантная природа или ход больших церебральных или цервикальных артерий, исключая частые варианты по типу дуги, такие, как «бычья дуга». Персистирующий каротидно-вертебробазилярный анастомоз Anomaly of major cerebral or cervical arteries. Dysplasia of the large cerebral arteries. Arterial stenosis or occlusion with or without moyamoya collaterals. Absence or moderate-severe hypoplasia of the large cerebral and cervical arteries. Aberrant origin or course of the large cerebral or cervical arteries except common arch variants such as bovine arch. Persistent carotid-vertebrobasilar anastomosis	Аневризма одной из церебральных артерий Aneurysm of any of the cerebral arteries
Структурные аномалии головного мозга Structural brain	Аномалии задней черепной ямки. Комплекс Денди-Уокера. Другие гипоплазии/дисплазии среднего и/или заднего мозга Posterior fossa brain anomalies. Dandy-Walker complex. Other hypoplasia/dysplasia of the mid and/or hind brain	Аномалии средней линии мозга. Мальформация кортикального развития Midline brain anomalies. Malformation of the cortical development
Кардиоваскулярные аномалии Cardiovascular anomalies	Аномалии дуги аорты. Коарктация аорты. Дисплазия. Аневризма. Аберрантная природа подключичной артерии с/без сосудистого кольца Aortic arch anomalies. Coarctation of the aorta. Dysplasia. Aneurysm Aberrant origin of the subclavian artery with or without f vascular ring	Дефект межжелудочковой перегородки (ДМЖП). Правосторонняя дуга аорты/ двойная дуга аорты. Системные венозные аномалии Ventricular septal defect. Right aortic arch/double aortic arch. Systemic venous anomalies
Окулярные аномалии Ocular anomalies	Аномалии заднего сегмента. Персистирующий гиперпластический первичный витриус. Персистирующие фетальные сосуды. Сосудистые аномалии сетчатки. Аномалии диска по типу «выюнка». Гипоплазия зрительного нерва. Перипапиллярная стафилома Posterior segment abnormalities. Persistent hyperplastic primary vitreous. Persistent fetal vasculature. Retinal vascular anomalies. Morning glory disc anomaly. Optic nerve hypoplasia. Peripapillary staphyloma	Аномалии переднего сегмента. Микрофтальмия. Склерокорнея. Колобома. Катаракта Anterior segment abnormalities. Microphthalmia. Sclerocornea. Coloboma. Cataracts
Вентральные/срединные структуры Ventral/midline	Срединные аномалии грудной клетки и брюшной стенки: - дефекты грудины; - воронкообразная грудь; - расщелина грудины; - аномалия белой линии живота Anomaly of the midline chest and abdomen: - sternal defect; - sternal pit; - sternal cleft; - supraumbilical raphe	Эктопия щитовидной железы. Гипопитуитаризм. Срединная стеральная папула/ гамартома Ectopic thyroid. Hypopituitarism. Midline sternal papule/hamartoma

Чаще всего при PHACE-синдроме в патологический процесс вовлекается 1 сегмент [14].

ИГ, расположенные в лобно-височном и лобно-назальном сегментах, сопровождаются высоким риском поражения органа зрения и центральной нервной системы (ЦНС), в то время как локализация в области сегмента верхней челюсти повышает риск развития кардиоваскулярных аномалий и дефектов средней линии [6].

Гемангиомы при PHACE-синдроме обладают теми же морфологическими, клиническими характеристиками, что и спорадические формы, т. е. имеют доброкачественную эволюцию. Последние развиваются параллельно с ангиомами, локализованными в области лица и шеи.

Гемангиомы, затрагивающие хрящевые структуры (ушные раковины, хрящи носа), могут вызывать некроз и вторичное воспаление мягких тканей с разрушением и некрозом хрящей.

2. Структурные изменения головного мозга, по данным литературы, составляют от 30,4 до 81% [9, 10, 15]. Чаще всего встречаются гипоплазии/дисплазии структур средней и/или задней черепной ямки, в частности аномалия Денди-Уокера. Реже встречаются мальформации кортикального развития (полимикрогирия, гетеротопия, дисплазия), гипоплазия/агенезия мозолистого тела, прозрачной перегородки, гипофиза. ИГ могут иметь также интракраниальную и субарахноидальную локализации.

Помимо структурных аномалий описаны 4 типа поражения сосудов головного мозга: дисплазия, гипоплазия, aberrантный ход сосуда, персистенция эмбрионального кровотока. Эти анатомические изменения совместимы с нормальным церебральным кровоснабжением, но могут лимитировать возможность коллатерального кровоснабжения при наличии стенозирования или окклюзии сосудов и стать причиной нарушения кровообращения в ЦНС с развитием кровоизлияний или ишемии. Степень сужения сосуда (более или менее 75%), а также наличие коллатерального кровотока будут определять риск развития цереброваскулярных осложнений [16].

Неврологические проявления вариабельны и зависят от размеров и локализации пораженных сосудов. К ним относятся: судороги, циклическая рвота, головная боль, задержка психомоторного развития, гипотония, опистотонус, тремор, тугоухость, в основе патогенеза которых в большинстве случаев лежат ишемические расстройства [6]. Возможно также поражение черепно-мозговых нервов.

3. Частота поражения кардиоваскулярной системы, по данным литературы, составляет 41–67%. Чаще всего встречается аномалия аорты: в виде коарктации (19–30% пациентов) или дисплазии дуги аорты (50% пациентов) – aberrантная подключичная артерия с/без сосудистого кольца [14, 17]. Реже встречаются правосторонняя двойная дуга аорты, перерыв дуги аорты и структурные аномалии сердца: ДМЖП и дефект межпредсердной перегородки (ДМПП), реже – тетрада Фалло.

Необходимо отметить, что сосудистые мальформации могут затрагивать и венозную часть [14, 17].

В большинстве случаев все сосудистые аномалии унилатеральны или гомолатеральны.

4. Поражение органа зрения чаще всего связано с аномалиями заднего сегмента глазного яблока и проявляется в виде персистенции фетальных сосудов, аномалии диска, сосудов сетчатки, гипоплазии зрительного нерва, колобомы, микрофтальмии. Могут также встречаться аномалии переднего сегмента.

5. Аномалии срединной линии встречаются редко. Чаще наблюдаются дефекты грудины (воронкообразная грудина, расщелина) и аномалии белой линии живота. Реже отмечается омфалоцеле и срединные аномалии лица.

6. Другие аномалии:

- гипоплазия зубной эмали, по данным литературы, встречается у 28% пациентов, а при локализации гемангиомы на слизистой оболочке полости рта – до 45% случаев, что увеличивает риск развития кариеса [18];

- эндокринные расстройства, такие как дисфункция щитовидной железы, которая может

быть связана с поражением гипоталамуса/гипофиза/самой щитовидной железы (эктопия/мальформация), гипопитуитаризм с дефицитом гормона роста, адреналовая недостаточность, неонатальная гипогликемия являются нередкими при PHACE-синдроме [8]. Реже встречается несахарный диабет;

- дисфагия, нарушения вскармливания и задержка речи [19]. Эти клинические симптомы чаще наблюдаются у пациентов с мальформациями задней черепной ямки. Дисфагия может быть вторичной, обусловленной расположением ИГ (губы, ротовая полость, глотка) или нарушением моторики;

- тугоухость может быть кондуктивная или нейросенсорная. Последняя обусловлена непосредственным поражением ИГ VIII пары черепно-мозговых нервов (преддверно-улитковый нерв) [20]. В этих случаях максимально рано поставленный диагноз и назначенная терапия позволяют избежать отсроченных осложнений;

- к другим редко встречающимся аномалиям относят: спинальный дизрафизм, микрогнатию, гипоплазию ушных раковин, орофациальные расщелины.

Таким образом, на основании больших и малых критериев выделяют 2 категории заболеваний: «очевидный» и «возможный» PHACE-синдром (таблица 2) [6].

Таблица 2

Критерии диагностики PHACE-синдрома

Table 2

Diagnostic criteria PHACE syndrome

«Очевидный» PHACE-синдром Definite PHACE syndrome		
Гемангиома головы > 5 см в диаметре + 1 большой или 2 малых критерия Hemangioma > 5 cm in diameter of the head including scalp + 1 major criteria or 2 minor criteria	Гемангиомы шеи, верхней части туловища или туловища и проксимальных отделов верхних конечностей + 2 больших критерия Hemangioma of the neck, upper trunk or trunk and proximal upper extremity + 2 major criteria	
«Возможный» PHACE-синдром Possible PHACE syndrome		
Гемангиома головы > 5 см в диаметре + 1 малый критерий Hemangioma > 5 cm in diameter of the head including scalp + 1 minor criteria	Гемангиомы шеи, верхней части туловища или туловища и проксимальных отделов верхних конечностей + 1 большой или 2 малых критерия Hemangioma of the neck, upper trunk or trunk and proximal upper extremity + 1 major or 2 minor criteria	Отсутствие гемангиомы + 2 больших критерия No hemangioma + 2 major criteria

ИГ, цереброваскулярные (в 83–91% случаев) и кардиоваскулярные (в 41–67% случаев) аномалии встречаются у большинства пациентов в дебюте заболевания [4, 12, 21].

Лечение заболевания зависит от объема поражения внутренних органов и носит мультидисциплинарный подход. Оно включает в себя 3 основные составляющие:

1) консервативное лечение, направленное на торможение роста гемангиомы с последующим полным ее разрешением. Препаратом выбора является неселективный β -блокатор – пропранолол. Инициальная доза составляет 0,5–1 мг/кг/сут в течение 1-й недели с дальнейшим увеличением дозы до 2–3 мг/кг/сут. Суточная доза равномерно делится на 3 приема (каждые 8 ч), препарат назначается сразу после еды;

2) хирургические методы лечения, направленные прежде всего на разрешение кардиологических и неврологических проблем, которые, как правило, и будут определять исход заболевания и долгосрочный прогноз. С этой целью применяются такие оперативные вмешательства, как реваскуляризация пораженных участков головного мозга с использованием тех же методик, что и при болезни мойя-мойя, кардиохирургические вмешательства, направленные на разрешение жизнеугрожающих пороков сердечно-сосудистой системы (37% случаев аномалии дуги аорты требуют хирургического вмешательства) [6], а также пластическая хирургия, направленная на устранение эстетических дефектов.

3) наблюдение и лечение у специалистов узкого профиля: окулистов, эндокринологов, стоматологов.

Прогноз зависит от тяжести клинических симптомов, что в свою очередь определяется степенью вовлечения в патологический процесс внутренних органов, особенно при наличии поражения сосудов головного мозга или крупных магистральных артерий. Но наиболее значимыми в плане прогноза являются неврологические осложнения, которые встречаются чаще.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Родители дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Из анамнеза известно, что ребенок родился на сроке 38–39 недель с весом 2450 г. На 20–22-й неделях гестации диагностирован врожденный порок сердца (ВПС): ДМЖП. При рождении выявлены множественные гемангиомы кожи в правой лобно-теменно-височной области, правой ушной раковине и заушной области.

На 23-и сутки жизни (после травмирования гемангиомы правой ушной раковины) состояние ребенка резко ухудшилось: развился очаг воспаления с гнойным отделяемым из области гемангиомы с последующим развитием некроза, в связи с чем он был госпитализирован в реанимационное отделение городской больницы по месту жительства, где поставлен диагноз: сепсис, септический шок.

На 29-е сутки жизни пациент был переведен в областную больницу по месту жительства в тяжелом состоянии с течением сепсиса, полиорганной недостаточностью для продолжения симптоматической терапии.

Ребенку были проведены обследования и выявлены следующие изменения:

- тромбоцитопения ($79 \times 10^9/\text{л}$);
- гипопрофибриногенемия (1 г/л);
- гипоальбуминемия (30 г/л);
- повышение лактатдегидрогеназы до 1181 Ед/л;
- внутрижелудочковое кровоизлияние (ВЖК), умеренная вентрикуломегалия, гипоксически-ишемическое поражение коры головного мозга (по данным компьютерной томографии (КТ));

- признаки объемного образования на магнитно-резонансной томографии (МРТ) в проекции тела бокового желудочка (вероятнее всего, гематома), ВЖК; тромбоз венозного синуса(?); образование мягких тканей височной, заушной и затылочной областей справа.

Ребенок был осмотрен специалистами и установлены следующие диагнозы:

- кардиолог: нарушение ритма – синдром Вольфа–Паркинсона–Уайта (WPW-синдром); ВПС – ДМЖП;
- невролог: спастический тетрапарез, органическое поражение ЦНС смешанного генеза, ВЖК; церебральная ишемия тяжелой степени;
- гематолог: синдром Казабаха–Мерритт;
- оториноларинголог: некроз правой ушной раковины.

По месту жительства проводилась симптоматическая терапия: противомикробная – антибиотиками широкого спектра действия, противосудорожными (депакин), антиаритмическими (кордарон) препаратами.

Ребенок в возрасте 1,5 месяца поступил в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева с диагнозом: первичный иммунодефицит, неуточненный; пневмония, гепатит, нефрит, некроз правой ушной раковины; ВЖК; ВПС: ДМЖП, сердечно-сосудистая недостаточность II степени, WPW-синдром. Синдром Казабаха–Мерритт(?).

При поступлении: гипотрофия (вес 3000 г). Кожа бледная с «мраморным» рисунком. Отмечается выраженная бледность носогубного треугольника. В области правой половины лица (щека, височная область, лоб, периорбитальная область) с распространением на правую ушную, заушную, затылочную области, шею выявляется сосудистое образование с четкими неровными краями ярко-красного/бордового цвета, едва выступающее над поверхностью кожи. В области завитка ушной раковины выявляется некроз кожи и подлежащего хряща с изъязвлением, мокну-

Рисунок 3

Клинические проявления заболевания: А – до лечения; Б – во время лечения; В – через 6 мес от начала терапии

Figure 3

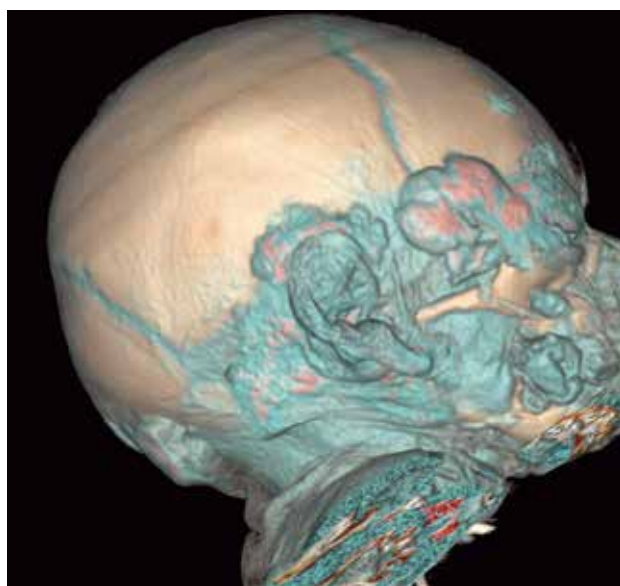
Clinical displays of disease: A – before treatment; Б – during treatment; В – 6 months after the start of therapy

**Рисунок 4**

КТ: объемная реконструкция, венозная фаза сканирования (множественные сосудистые образования мягких тканей головы и шеи)

Figure 4

Computer tomography (CT): volume reconstruction, venous phase of scanning (multiple vascular formations of soft tissues of the head and neck)



тием, гнойным отделяемым. Правый глаз закрыт, веки отечные (рисунок 3). Фотореакция несколько снижена. Голова повернута влево, язык девирует влево. В области неба и небных дужек выявляется сосудистое образование красного цвета с четкими неровными контурами, не возвышающееся над слизистой оболочкой. Гипотрофия мышц, мышечная сила диффузно снижена (до 2–3 баллов). Отмечается грубый систолический шум над всей областью сердца, печень увеличена до +3 см по правой среднеключичной линии.

При обследовании выявлены следующие изменения:

1) в общем анализе крови: лейкоцитоз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево до миелоцитов, тромбоцитопения – $79 \times 10^9/\text{л}$;

2) гипосфибриногенемия (1,54 г/л);

3) КТ головы с контрастным усилением:

- множественные сосудистые образования мягких тканей головы (правая височная область с распространением на область глазницы до спинки носа – $19 \times 51 \times 31$ мм с захватом передней и боковой поверхности глазного яблока, а также с инфильтрацией правой слезной железы; на уровне сосцевидного отростка правой височной кости – $15 \times 41 \times 54$ мм с вовлечением ушной раковины; в затылочной области – $9 \times 17 \times 21$ мм, в правой щечной области – $13 \times 17 \times 21$ мм и $7 \times 7 \times 7$ мм, в окологлоточной области справа – $6 \times 7 \times 10$ мм (рисунок 4);

- субэпендимальное кровоизлияние в левый боковой желудочек (рисунок 5);

- внутренняя гидроцефалия по заместительному типу (рисунок 6);

4) МРТ головного мозга:

- гематома сосудистого сплетения в левый боковой желудочек (рисунки 7 и 8);

- выраженная внутренняя гидроцефалия (рисунки 7 и 8);

- аномалия Денди-Уокера (гипоплазия базальных отделов мозжечка, расширение ретроцеребеллярной цистерны, которая сообщается с IV желудочком);

5) по данным магнитно-резонансной ангиографии нельзя исключить наличие в области гематомы сосудистого сплетения бокового желудочка сосудистой мальформации (рисунок 9);

Рисунок 5

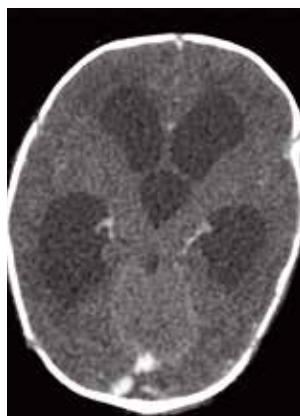
КТ: аксиальный срез. Яркое гиперденсивное содержимое в желудочковой системе – кровь; в мягких тканях правой орбиты кровоизлияние в патологическое образование

**Figure 5**

CT: axial section. Bright hyperdense contents in the ventricular system – blood; in the soft tissues of the right orbit – hemorrhage in the pathological formation

Рисунок 6

КТ: аксиальный срез, венозная фаза сканирования. Гидроцефалия

**Figure 6**

CT: axial section, venous phase of scanning. Hydrocephalus

Рисунок 7

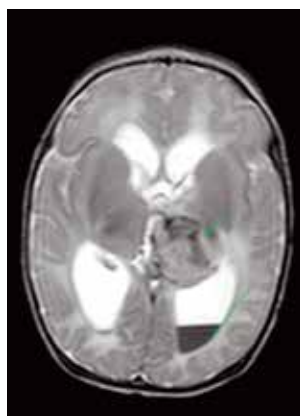
МРТ: T2-Flair-последовательность. Гиперинтенсивное субependимальное образование слева, уровень жидкости в заднем роге (кровь), гидроцефалия

**Figure 7**

Magnetic resonance imaging (MRI): T2-Flair. Hyperintense subependymal formation on the left, the fluid level in the posterior horn (blood), hydrocephalus

Рисунок 8

МРТ: T2-последовательность. Изоинтенсивное неоднородное субependимальное образование слева, гипоинтенсивный уровень жидкости в заднем роге левого желудочка (кровь), гидроцефалия

**Figure 8**

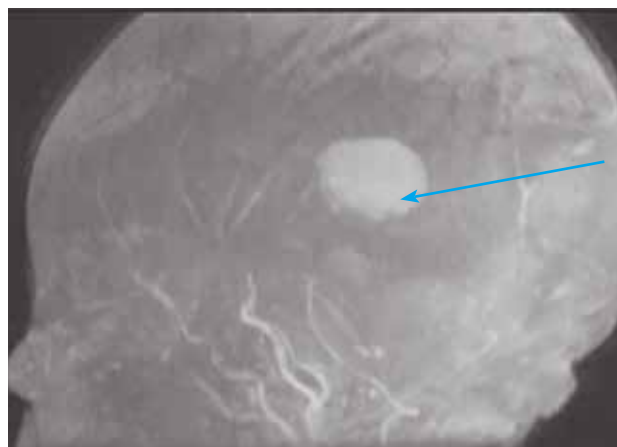
MRI: T2. Isointense heterogeneous subependymal formation on the left, hypointense fluid level in the posterior horn of the left ventricle (blood), hydrocephalus

Рисунок 9

МРТ, ангиография: высокоvascularизированное образование головного мозга

Figure 9

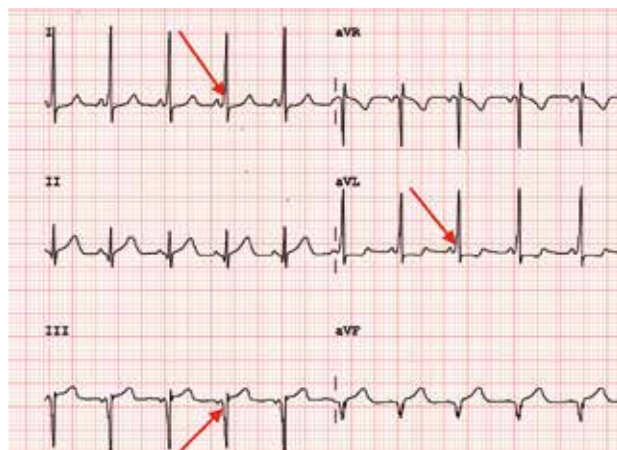
MRI, arteriography: highly vascularized brain formation

**Рисунок 10**

ЭКГ: изменения в виде дельта-волны (указано стрелками)

Figure 10

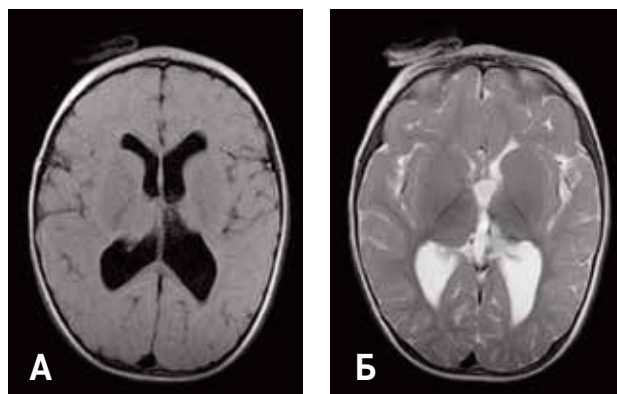
Electrocardiography: Delta waves (indicated by arrows)

**Рисунок 11**

МРТ головного мозга (контрольное исследование): А – T2-взвешенное изображение, FLAIR; Б – T2-взвешенное изображение (аксиальная проекция)

Figure 11

MRI of the brain (control examination): A – T2-weighted image, FLAIR; Б – T2-weighted image (axial section)



6) по данным эхокардиографии: в межмембранозной части межжелудочковой перегородки выявлены аневризматическое выбухание размером 6×6 мм; множественные перфорации общим размером 4,5–5 мм с лево-правым сбросом; открытое овальное окно 3,3 мм со сбросом слева направо; гипертрофия левого желудочка. Фракция выброса 73%;

7) офтальмолог: правый глаз – гемангиома верхнего века с распространением на верхний конъюнктивальный свод; в остальном – без динамики;

8) кардиолог: ВПС – ДМЖП, открытое овальное окно, нарушение сердечного ритма – суправентрикулярная пароксизмальная тахикардия, WPW-синдром;

9) невролог: ВЖК IV степени, тетрапарез, миопатический синдром, судорожный синдром;

10) оториноларинголог: гемангиома правых отделов лица, ротоглотки; хондроперихондрит ушной раковины справа; парез маргинальной ветви лицевого нерва.

На основании проведенных исследований ребенку был поставлен диагноз: РНАСЕ-синдром:

- сегментарная гемангиома правой половины головы размерами более 5 см в диаметре;

- 2 больших критерия: мальформация сосудов головного мозга; аномалия задней черепной ямки – аномалия Денди–Уокера;

- 1 малый критерий: ДМЖП.

После постановки диагноза ребенку была начата специфическая терапия неселективными β -блокаторами – пропранололом в начальной дозе 1 мг/кг/сут с постепенным (в течение 9 дней) повышением до 3 мг/кг/сут под контролем электрокардиографии (ЭКГ).

Однако с учетом тяжести состояния, локализации гемангиомы (правая орбита, слизистая оболочка полости рта и ротоглотки с высокой степенью вероятности нарушения проходимости дыхательных путей за счет возможного стеноза) в целях достижения максимально быстрого эффекта была дополнительно назначена метрономная терапия (МТ) в составе: циклофосфан в дозе 50 мг/м²/сут – 14 дней + винбластин в дозе 1 мг/м² 3 раза в неделю (всего 6 доз).

На 5-е сутки терапии β -блокаторами/3-и сутки МТ отмечалась выраженная положительная динамика в виде уменьшения отека в периорбитальной области, снижения интенсивности окраски гемангиомы.

На 16-е сутки терапии β -блокаторами/14-е сутки МТ: уменьшение размеров гемангиомы на слизистой оболочке полости рта и на коже в околоушной, заушной, височной областях, а также в области ушной раковины; эпителизация изъязвлений правой ушной раковины.

Всего ребенку было проведено 2 курса МТ с интервалом в 2 нед в комбинации с неселективными β -блокаторами.

Специфическая терапия проводилась на фоне сопроводительного лечения:

1) антибиотики и противогрибковые препараты широкого спектра действия;

2) заместительная терапия препаратами крови: эритроцитарная масса с поддержанием уровня гемоглобина более 100 г/л (с учетом возраста ребенка и наличия порока сердца);

3) ранее назначенные антиаритмические (кордарон) и противосудорожные препараты (депакин) с постепенной медленной отменой под контролем ЭКГ и электроэнцефалографии.

Таким образом, в результате проведенного комплексного лечения полностью были купированы проявления гемангиомы на коже (рисунки 3) и слизистой оболочке, санированы очаги инфекции, восстановилась целостность ушной раковины, по данным МРТ (через 2 мес от начала терапии) отмечено сокращение размеров гематомы на 30% с уменьшением выраженности внутренней гидроцефалии. Восстановление количества тромбоцитов зафиксировано через 10 дней от начала терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

При рождении ИГ может отсутствовать или быть представлена начальными проявлениями в виде участка бледной эритемы/телеангиоэктатических изменений. Однако ко 2–4-й неделям жизни ИГ становятся, как правило, очевидными.

Мы часто задаем себе вопросы: может ли гемангиома пройти самостоятельно? Затронуты ли только кожные покровы? Какие изменения на коже должны быть сигналом к проведению дополнительных исследований? Требуется ли ребенку назначение терапии?

В данной статье, представив клинический случай, мы попытались охарактеризовать достаточно редко встречающуюся форму ИГ, которая порой скрывает за внешним благополучием тяжелые соматические проблемы.

Поэтому при выявлении гемангиомы с локализацией в области головы и шеи с вовлечением в патологический процесс нескольких дерматом мы должны помнить, что болезнь могла «выйти» далеко за пределы кожи! Гемангиомы с такими характеристиками должны быть подсказкой и указывать на необходимость экстренного обращения к врачу и проведения комплексного обследования, включающего:

- неврологический осмотр с обязательным выполнением МРТ головы в целях поиска структурных аномалий развития, а также МРТ в ангиорежиме для исключения мальформаций артериальных сосудов головного мозга;

- кардиоваскулярное обследование;

- офтальмологический осмотр;
- при необходимости: эндокринологический осмотр и консультацию врача-оториноларинголога.

И конечно, надо помнить о высокой степени вероятности наличия гемангиомы в подглоточном/окологлоточном пространствах при локализации опухоли в области 3-го сегмента и шеи, как это отмечалось у нашего пациента. Такая локализация гемангиомы может привести к обтурации верхних дыхательных путей с летальным исходом.

Представленный клинический случай также интересен тем, что у ребенка было диагностировано нарушение ритма – WPW-синдром (рисунки 10). Это врожденная патология, которая характеризуется наличием дополнительных аномальных проводящих путей (на ЭКГ представлено дельта-волной, рисунок 10), по которым импульс может проводиться из предсердия в желудочки, вызывая зачастую смертельные нарушения ритма. Известно, что это достаточно редкая форма нарушения ритма, частота встречаемости составляет 0,15–0,25% в общей популяции. Как правило, этот синдром не связан со структурной патологией сердца. Но в ряде случаев WPW-синдром сочетается с ВПС (ДМЖП и ДМПП), которые были у нашего пациента.

Если при простой ИГ вопрос о назначении неселективных β-блокаторов может обсуждаться, то при наличии осложненной формы (гемангиомы с вовлечением витальных структур, сегментарная гемангиома), которая наблюдалась у нашего пациента (вовлечение глазницы, слезной железы, ушной раковины, слизистых оболочек полости рта, окологлоточного пространства), терапия должна быть инициирована максимально быстро. В нашем клиническом случае диагноз был поставлен достаточно поздно, и ребенок поступил с уже имеющимися осложнениями (разрушение хрящевой составляющей ушной раковины с вторичным инфицированием и сепсисом), продолженным ростом сосудистых образований в глазнице и окологлоточном пространстве. В целях максимально быстрого разрешения гемангиомы дополнительно было решено назначить МТ в комбинации: циклофосфан + винбластин. Комбинированная специфическая терапия позволила в течение 2 нед достичь стабилизации заболевания с последующим быстрым разрешением гемангиомы. На контрольной МРТ, выполненной через 14 мес от первичного обследования, отмечается значимая положительная динамика в виде рассасывания гематомы в проекции сосудистого сплетения левого бокового желудочка, однако сохраняется внутренняя гидроцефалия (рисунки 11).

Длительность терапии β-блокаторами составила 16 мес. Период наблюдения к моменту написания данной статьи – 17 мес.

Таблица 3

Кто должен быть обследован на PHACE-синдром [6]

Table 3

Who should be screened for PHACE syndrome [6]

№	Критерии Criteria
1	Дети с сегментарной ИГ головы Segmental infantile hemangioma of the head
2	Дети с ИГ (меньшего размера или с типичной морфологией и локализацией) и характерными большими критериями (например, срединные вентральные дефекты, коарктация аорты и т. д.) Infants with infantile hemangioma (smaller or lacking typical morphology or distribution) and characteristic/major anomalies found in PHACE (eg, midline ventral defects, coarctation of the aorta, etc)
3	Дети без ИГ на коже, но имеющие другие характерные аномалии (большие критерии) Infants without cutaneous infantile hemangiomas with other characteristic anomalies found in PHACE (major criteria)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, дети с большой сегментарной ИГ, локализованной на лице, имеют риск развития PHACE-синдрома. Приблизительно 31% детей с ИГ площадью 22 см² (5 × 4,5 см), локализованной на лице, имеют доказанный PHACE-синдром [14]. Однако необходимо отметить, что пациенты, имеющие критерии данного синдрома, могут иметь иную локализацию ИГ: волосяная часть головы, шея, верхняя половина грудной клетки, проксимальные отделы верхних конечностей) (таблица 2) [11]. И даже интраорбитальные ИГ, не выходящие за пределы глазницы, могут быть ассоциированы с PHACE-синдромом [22].

Поэтому полное обследование должны проходить все пациенты, имеющие ИГ указанных локализаций, а также дети с большими критериями PHACE-синдрома и с отсутствующей на коже гемангиомой (таблица 3) [6].

Таким образом, диагноз «PHACE-синдром» может быть заподозрен при наличии ИГ с локализацией в области головы/шеи/верхней половины грудной клетки и проксимальных отделов рук и подтвержден инструментальными методами обследования, такими как КТ, МРТ, кардиологические методы исследования. Что же касается ангиографии и биопсии, они не являются рутинными методами исследования.

Пациенты с PHACE-синдромом представляют достаточно гетерогенную группу, что связано прежде всего со степенью вовлечения внутренних органов в патологический процесс, тяжестью (значимостью) представленных мальформаций сосудов ЦНС и сердечно-сосудистой системы в целом. А неврологические и сердечно-сосудистые проявления, которые встречаются при этом синдроме, порой имеют очень тяжелый характер, приводя к серьезным функциональным расстройствам.

Лечение заболевания зависит от объема поражения и имеет мультидисциплинарный подход с разрешением кардиологических и неврологических проблем, а также торможением роста ИГ. Стандартом при ИГ является терапия неселективными β -блокаторами.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Khachatryan L.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7265-0414>

Nikolaeva D.M. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4367-5975>

Shcherbakov A.P. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8129-0545>

Литература

- Kilcline C., Frieden I.J. Infantile hemangiomas: how common are they? A systematic review of the medical literature. *Pediatr Dermatol* 2008; 25 (2): 168–73. DOI: 10.1111/j.1525-1470.2008.00626.x
- Yilmaz L., Kacenelenbogen N. Les anomalies vasculaires cutanées chez l'enfant. *Rev Med Brux* 2015; 36 (4): 348–57.
- Yilmaz L., Dangoisse C., Semaille P. Hémangiome infantile du nourrisson et propranolol: une "révolution" thérapeutique. *Revue de la littérature. Rev Med Brux* 2013; 34 (6): 479–84.
- Hess C.P., Fullerton H.J., Metry D.W., Drolet B.A., Siegel D.H., Augeste K.I., et al. Cervical and intracranial arterial anomalies in 70 patients with PHACE syndrome. *AJNR Am J Neuroradiol* 2010; 31 (10): 1980–6. DOI: 10.3174/ajnr.A2206
- Rotter A., Samorano L.P., Rivitti-Machado M.C., Prado Oliveira Z.N., Gontijo B. PHACE syndrome: clinical manifestations, diagnostic criteria, and management. *An Bras Dermatol* 2018; 93 (3): 405–11. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20187693
- Garzon M.C., Epstein L.G., Heyer G.L., Frommelt P.C., Orbach D.B., Baylis A.L., et al. PHACE Syndrome: Consensus-Derived Diagnosis and Care Recommendations. *J Pediatr* 2016; 178: 24–33.e2. DOI: 10.1016/j.jpeds.2016.07.054
- Raas-Rothschild A., Nir A., Gillis R., Rein A.J. Giant condylar aortic aneurysm with cleft sternum, supraumbilical raphe, and hemangiomatosis: report and review. *Am J Genet* 2000; 90 (3): 243–5. DOI: 10.1002/(sici)1096-8628(20000131)90:3<243::aid-ajmg11>3.0.co;2-1
- Pascual-Castroviejo I. Vascular and non-vascular intracranial malformation associated with external capillary hemangiomas. *Neuroradiology* 1978; 16: 82–4. DOI: 10.1007/BF00395211
- Frieden I.J., Reese V., Cohen D. PHACE syndrome. The association of fossa brain malformations, hemangiomas, arterial anomalies, coarctation of the aorta and cardiac defects, and eye abnormalities. *Arch Dermatol* 1996; 132 (3): 307–11. DOI: 10.1001/archderm.132.3.307
- Metry D.W., Heyer G., Hess C., Garzon M., Haggstrom A., Frommelt P., et al. Consensus Statement on Diagnostic Criteria for PHACE Syndrome. *Pediatrics* 2009; 124 (5): 1447–56. DOI: 10.1542/peds.2009-0082
- Nabatian A.S., Milgram S.S., Hess C.P., Mancini A.J., Krol A., Frieden I.J. PHACE without face? Infantile hemangiomas of the upper body region with minimal or absent facial hemangiomas and associated structural malformations. *Pediatr Dermatol* 2011; 28 (3): 235–41. DOI: 10.1111/j.1525-1470.2011.01407.x
- Metry D.W., Haggstrom A.N., Drolet B.A., Baselga E., Chamlin S., Garzon M., et al. A prospective study of PHACE syndrome in infantile hemangiomas: dermatographic features, clinical findings, and complications. *Am J Med Genet A* 2006; 140 (9): 975–86. DOI: 10.1002/ajmg.a.31189
- Haggstrom A.N., Lammer E.J., Schneider R.A., Marcucio R., Frieden I.J. Patterns of Infantile Hemangiomas: New Clues to Hemangioma Pathogenesis and Embryonic Facial Development. *J Pediatr* 2006; 117 (3): 698–703. DOI: 10.1542/peds.2005-1092
- Haggstrom A.N., Garzon M.C., Baselga E., Chamlin S.L., Frieden I.J., Holland K., et al. Risk for PHACE syndrome in infant with large facial hemangioma. *Pediatrics* 2010; 126 (2): e418–26. DOI: 10.1542/peds.2009-3166
- Poetke M., Frommelt T., Berlien H.P. PHACE syndrome: new views on diagnostic criteria. *Eur J Pediatr Surg* 2002; 12 (6): 366. DOI: 10.1055/s-2002-36849
- Metry D., Frieden I.J., Hess C., Siegel D., Maheshwari M., Baselga E., et al. Propranolol use in PHACE syndrome with cervical and intracranial arterial anomalies: collective experience in 32 infants. *Pediatr Dermatol* 2013; 30 (1): 71–89. DOI: 10.1111/j.1525-1470.2012.01879.x
- Bayer M.L., Frommelt P.C., Blei F., Breur J.M., Cordisco M.R., Frieden I.J., et al. Congenital cardiac, aortic arch, and vascular bed anomalies in PHACE syndrome (from the International PHACE Syndrome Registry). *Am J Cardiol* 2013; 112 (12): 1948–52. DOI: 10.1016/j.amjcard.2013.08.025
- Hartemink D.A., Chiu Y.E., Drolet B.A., Kerschner J.E. PHACES syndrome: a review. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2009; 73 (2): 181–7. DOI: 10.1016/j.ijporl.2008.10.017
- Martin K.L., Arvedson J.C., Bayer M.L., Drolet B.A., Chun R., Siegel D.H. Risk of dysphagia and speech and language delay in PHACE syndrome. *Pediatr Dermatol* 2015; 32 (1): 64–9. DOI: 10.1111/pde.12447
- Rudnick E.F., Chen E.Y., Manning S.C., Perkins J.A. PHACE syndrome: otolaryngic considerations in recommendation and management. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2009; 73 (2): 281–8. DOI: 10.1016/j.ijporl.2008.10.018
- Chiller K.G., Passaro D., Frieden I.J. Hemangiomas of infancy: clinical characteristics, morphologic subtypes, and their relationship to race, ethnicity, and sex. *Arch Dermatol* 2002; 138 (12): 1567–76. DOI: 10.1001/archderm.138.12.1567
- Antonov N.K., Spence-Shishido A., Marathe K.S., Tlougan B., Kazim M., Sultan S., et al. Orbital hemangioma with intracranial vascular anomalies and hemangiomas: a new presentation of PHACE Syndrome. *Pediatr Dermatol* 2015; 32 (6): e267–72. DOI: 10.1111/pde.12695

Случай развития вторичного миелоидного лейкоза у пациента с нейробластомой

Д.Т. Уталиева, И.И. Калинина, Д.Ю. Качанов, Д.А. Евсеев, А.П. Щербаков,
М.Э. Дубровина, Р.А. Моисеенко, Ю.Н. Ликарь, Т.В. Шаманская

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Современные успехи детской онкологии улучшили показатели выживаемости пациентов с нейробластомой (НБ) группы промежуточного и высокого риска. В то же время интенсивная мультимодальная терапия приводит к увеличению частоты встречаемости вторичных злокачественных новообразований у выживших пациентов. В настоящее время известно, что алкилирующие агенты, ингибиторы топоизомеразы II и препараты платины могут приводить к развитию вторичного острого миелоидного лейкоза (ОМЛ). В данной статье представлены литературный обзор и описание клинического случая развития вторичного ОМЛ через 57 мес от установления первичного диагноза у пациента с НБ группы промежуточного риска, получавшего интенсивную химиотерапию в 1-й линии и в рецидиве заболевания. Дебют вторичного ОМЛ потребовал выполнения ряда диагностических исследований для исключения рецидива НБ. Родители дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: нейробластома, дети, вторичные злокачественные опухоли, вторичный острый миелоидный лейкоз

Уталиева Д.Т. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 105–113.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-105-113

Therapy-related acute myeloid leukemia in a patient with neuroblastoma: case report

D.T. Utalieva, I.I. Kalinina, D.Yu. Kachanov, D.A. Evseev, A.P. Shcherbakov, M.Ye. Dubrowina, R.A. Moiseenko,
Yu.N. Likar, T.V. Shamanskaya

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

Modern, risk-adapted treatment approaches for intermediate and high-risk neuroblastoma (NB) have led to an increasing numbers of survivors. However, intensive multimodal treatment strategy is associated with a significantly increased risk of secondary malignancies. It is currently known that alkylating agents, topoisomerase II inhibitors, and platinum compounds induce treatment-related leukemia. This article presents a literature review and description of a clinical case of secondary acute myeloid leukemia (s-AML) developed 57 months after the initial diagnosis in a patient with intermediate-risk NB who received intensive first-line and post-relapse chemotherapy. The debut of s-AML required a differential diagnosis to rule out a relapse of NB. Parents gave their consent to use information about the child, including fotos, in the article.

Key words: neuroblastoma, children, secondary malignancies, secondary acute myeloid leukemia

Utalieva D.T., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 105–113.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-105-113

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 19.06.2020
Принята к печати 24.07.2020

Контактная информация:

Уталиева Динара Тиморкановна,
врач отделения клинической онкологии
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: clinoncology@gmail.com

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 19.06.2020
Accepted 24.07.2020

Correspondence:

Dinara T. Utalieva,
Physician of Department of Clinical
Oncology, Dmitry Rogachev National
Research Center of Pediatric Hematology,
Oncology and Immunology, Ministry
of Healthcare of Russian Federation
Address: Russia, 117997, Moscow,
Samory Mashela st., 1
E-mail: clinoncology@gmail.com

Современная стратегия терапии злокачественных новообразований (ЗНО) у детей подразумевает использование схем лечения, наиболее оптимальных для достижения хорошей отдаленной выживаемости при минимизации побочных эффектов. В настоящее время много работ посвящено частоте и характеру развития отдаленных побочных эффектов (ОПЭ), выявлению факторов, влияющих на их развитие, и разработке алгоритма ведения пациентов, завершивших лечение по поводу ЗНО [1–3].

Эти вопросы наиболее изучены на группах пациентов с часто встречающимися видами ЗНО (острый лимфобластный лейкоз и опухоли центральной нервной системы). Опубликован целый ряд междуна-

родных исследований, посвященных изучению ОПЭ у пациентов с самой частой эмбриональной опухолью – нейробластомой (НБ) [4–7].

При развитии ОПЭ при НБ наиболее часто отмечаются патологии со стороны органа слуха, костной системы, нарушения функций почек и легких, а также эндокринологические нарушения [4–7]. Наиболее грозным последствием терапии НБ является развитие вторичных ЗНО, которые могут быть обусловлены введением химиопрепаратов, проведением лучевой терапии или комбинацией указанных терапевтических методов.

В статье представлено описание клинического случая развития вторичного острого миелоидного

лейкоза (ОМЛ) у пациента с НБ группы промежуточного риска, успешно завершившего терапию 1-й линии, и при развитии комбинированного рецидива заболевания, а также представлен обзор литературы по данной тематике.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Родители дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

У мальчика в возрасте 4 лет 7 месяцев при плановом ультразвуковом исследовании (УЗИ) органов брюшной полости (ОБП) выявлено объемное образование забрюшинного пространства справа. Для дальнейшего обследования и лечения ребенок был госпитализирован в ФБГУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Выполненное обследование в объеме компьютерной томографии (КТ) ОБП подтвердило наличие объемного образования в забрюшинном пространстве справа, переходящего за среднюю линию, размерами до $10,3 \times 9,8 \times 11,4$ см ($V = 598$ см³), с нечеткими, неровными контурами, распространяющееся в ворота печени, правой и левой почки, с инвазией в паренхиму правой почки, неоднородное по своей структуре за счет наличия гиперденсивных включений, вероятнее всего, участков распада (рисунки 1). По результатам сцинтиграфии с ¹²³I-метайодбензилгуанидином (¹²³I-МЙБГ) определялся очаг аномального накопления радиофармпрепарата (РФП) только в проекции локализации опухоли забрюшинного пространства (рисунки 2). Морфологическое исследование костного мозга не выявило атипичных клеток. В целях гистологической верификации диагноза выполнены биопсия опухоли и наложение нефростомы справа в связи с наличием гидронефротической трансформации правой почки на фоне инвазии опухоли и развитием признаков нарушения почечной функции (вторичная артериальная гипертензия, повышение концентрации креатинина в плазме крови). Гистологическое исследование выявило недифференцированную НБ с высоким индексом митоз-кариорексис. Цитогенетическое исследование с использованием методики флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) не показало наличия таких неблагоприятных молекулярно-генетических маркеров, как амплификация гена *MYCN* и делеция 11q, однако был выявлен дисбаланс 1p и gain гена *MYCN*. Таким образом, ребенку был установлен диагноз: недифференцированная НБ забрюшинного пространства справа, стадия 3 по INSS (International Neuroblastoma Staging System – Международная система оценки стадии при НБ). С учетом возраста, стадии заболевания и данных цитогенетического

исследования пациент был стратифицирован в группу промежуточного риска и получал терапию в рамках модифицированного протокола немецкой группы по лечению НБ NB-2004. В рамках протокола пациент получил 6 курсов индукционной химиотерапии (N5/N6). Курс N5 включал препараты: винкристин, карбоплатин, этопозид; курс N6 – винкристин, циклофосфамид, дакарбазин, доксорубин. Следует отметить, что курсы химиотерапии были модифицированы для снижения нефротоксичности: в курсе N5 цисплатин заменен на карбоплатин, в курсе N6 применялся циклофосфамид вместо ифосфамида. После 4 курсов терапии проведено оперативное вмешательство в объеме релапаротомии, удаления более 80% опухоли забрюшинного пространства справа. Гистологическое заключение: низкодифференцированная НБ с индуцированным посттерапевтическим патоморфозом III степени. По результатам контрольного обследования после 6 курсов индукционной терапии был достигнут полный ответ. Далее согласно протоколу лечения была проведена поддерживающая терапия 4 курсами по схеме N7 (монотерапия циклофосфамидом) и 9 курсов дифференцировочной терапии высокими дозами 13-цис-Ретиноевой кислоты. Терапия завершена с сохранением полного ответа по заболеванию.

Через 11 мес от окончания терапии 1-й линии у пациента появились клинические жалобы на боли в животе. В целях исключения рецидива выполнена КТ грудной клетки и брюшной полости, где были выявлены образование забрюшинного пространства справа размерами до $8,5 \times 8,4 \times 11,5$ см ($V = 427$ см³), увеличенные лимфатические узлы заднего средостения (рисунки 3). Выполненное дообследование, включающее сцинтиграфию с ¹²³I-МЙБГ, выявило множественные очаги патологического накопления РФП в образовании, локализованном в забрюшинном пространстве, а также в проекции головы, грудной клетки, таза, верхних и нижних конечностей (рисунки 4). Однако морфологическое исследование костного мозга не выявило атипичных клеток. Таким образом, по результатам проведенного обследования констатирован комбинированный рецидив с поражением забрюшинного пространства, костей скелета и лимфатических узлов заднего средостения. Начата терапия 2-й линии. В качестве схемы реиндукционной терапии была выбрана комбинация TOTEM (топотекан/темозоломид). После проведения 4 курсов химиотерапии по результатам контрольного обследования зафиксирована положительная динамика в виде сокращения в размерах образования забрюшинного пространства на 82% с уменьшением лимфатических узлов средостения, а также снижения метаболической активности опухоли за счет нивелирования очагов патологического нако-

пления РФП по данным контрольной сцинтиграфии с ^{123}I -МЙБГ. Сокращение размеров опухоли позволило выполнить оперативный этап лечения – лапаротомию, удаление более 90% опухоли забрюшинного пространства. Гистологическое заключение показало наличие низкодифференцированной НБ с индуцированным посттерапевтическим патоморфозом III степени. Результаты контрольного обследования после завершения 6 курсов реиндукционной терапии выявили наличие МЙБГ-негативных минимальных опухолевых компонентов в забрюшинном пространстве и средостении, что, согласно международным критериям оценки ответа на терапию для пациентов с НБ, было расценено как частичный ответ. Следующим этапом терапии были выполнены консолидация в виде проведения высокодозной химиотерапии по схеме треосульфат/мелфалан и аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). С учетом развития рецидива заболевания и сохранения остаточной опухоли в забрюшинном пространстве на фоне терапии 2-й линии была проведена лучевая терапия на область рецидивной опухоли и забрюшинных лимфоузлов в объеме, определяемом по данным визуализационных методов до момента операции в суммарной очаговой дозе 21 Гр. Учитывая предшествующее применение 13-цис-Ретиноевой кислоты в 1-й линии, в качестве режима постконсолидации была выбрана терапия низкими дозами препаратов (винбластин/целексиб/циклофосфамид/этопозид) [8].

Метрoномная терапия проводилась в течение 18 мес от аутологичной ТГСК и была завершена в связи с плохой переносимостью. Через 1 мес после завершения терапии появились жалобы на боли в области шеи и фебрильную лихорадку. В анализе крови были выявлены лейкоцитоз $47,7 \times 10^9/\text{л}$, бластоз 28%, тромбоцитопения $117 \times 10^9/\text{л}$, анемия (гемоглобин 73 г/л). Мальчик был госпитализирован в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в тяжелом состоянии за счет интоксикационного и болевого синдромов. Проводилось обследование для исключения рецидива НБ: по данным мультиспиральной КТ (МСКТ) органов грудной клетки (ОГК), ОБП наблюдались двусторонний гидроторакс, лейкоцитарная инфильтрация обоих легких, остаточные кальцинированные компоненты опухоли в забрюшинном пространстве, по данным сцинтиграфии с ^{123}I -МЙБГ очагов патологического накопления РФП не определялось (рисунки 5). В гемограмме выявлены изменения: бластоз до 30%, лейкоцитоз до $95 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитопения до $17 \times 10^9/\text{л}$, снижение гемоглобина до 82 г/л. В миелограмме: бластные клетки более 20%, иммунофенотип бластной популяции соответствовал ОМЛ, М4-вариант с коэкспрессией CD19 (рисунки 6). Методом FISH выявлены хромосомные перестройки

46,XY, der(6)t(6;11)(p21; q13), перестройка гена *MLL* не обнаружено. По данным ликворограммы патологии не выявлено. Таким образом, у пациента имело место развитие вторичного ОМЛ (через 57 мес после постановки первичного диагноза НБ), начата специфическая терапия. На фоне проведения циторедукции (этопозид/митоксантрон) выявлена положительная динамика в виде снижения уровня лейкоцитов до $3,93 \times 10^9/\text{л}$. Далее пациенту проводилась индукция ремиссии FLAI (флударабин/идарубицин/цитабин). Состояние ребенка осложнилось течением сепсиса, на фоне лихорадки отмечались инфекционная сыпь на туловище, верхних и нижних конечностях, нестабильная гемодинамика, тенденция к гипотонии с развитием септического шока, в связи с чем пациент получал комбинированную противомикробную терапию в условиях отделения реанимации. В предтрансплантационном обследовании по данным миелограммы, иммунофенотипирования костного мозга и ликворограммы бластных клеток не выявлено, результаты сцинтиграфии с ^{123}I -МЙБГ показали, что пациент в ремиссии по НБ (патологического накопления РФП не выявлено). Следующим этапом терапии проведена трансплантация костного мозга (ТКМ) от родственного полностью совместимого донора (брат). ТКМ выполнена после миелоаблативного режима кондиционирования в следующем составе: тотальное облучение тела с бустом на костный мозг в дозе 12 Гр, флударабин, тиотепа, абатацепт, бортезомиб. Количество ядро-содержащих клеток, использованных для трансплантации, составило $4,32 \times 10^8/\text{кг}$ массы тела, CD34⁺-клеток – $12,19 \times 10^6/\text{кг}$, CD3⁺-клеток – $56,14 \times 10^6/\text{кг}$. В качестве профилактики реакции «трансплантат против хозяина» проводилась иммуносупрессивная терапия: циклоспорин, микофенолата мофетил. В ранний посттрансплантационный период осложнений токсического и инфекционного характера не наблюдалось. Приживление трансплантата: лейкоцитарного роста – на +11-е сутки, тромбоцитарного роста – на +13-е сутки. В настоящее время (+60-е сутки от ТКМ) пациент жив и находится в ремиссии по вторичному ОМЛ. По основному заболеванию (НБ) сохраняется полный ответ.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

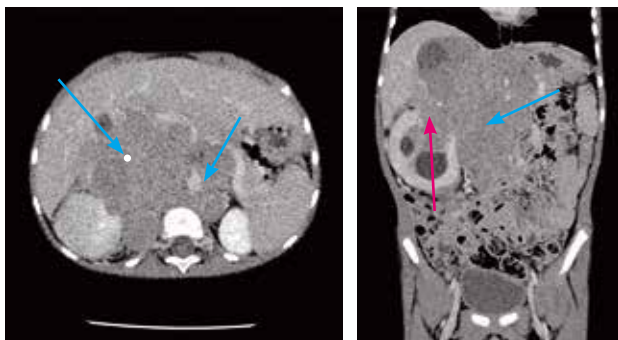
НБ является наиболее частой экстракраниальной солидной опухолью детского возраста, на долю которой приходится 7–8% всех ЗНО у детей 0–14 лет [9]. НБ – крайне гетерогенная опухоль из-за особых клинических и биологических характеристик и может характеризоваться разнообразным биологическим поведением: от быстрого прогрессирующего течения

Рисунок 1

МСКТ ОБП в момент постановки диагноза НБ (венозная фаза сканирования, аксиальная и коронарная проекции). Забрюшинно справа, переходя за среднюю линию, определяется конгломерат опухолевой ткани и увеличенных лимфоузлов (синие стрелки) с нечеткими, неровными контурами, распространяющийся в ворота печени, правой и левой почки, инвазирующий паренхиму правой почки (красная стрелка). Образование неоднородное по своей структуре за счет наличия гиподенсивных участков (распад), а также гиперденсивных включений (кровоизлияния, кальцинаты), максимальными размерами до $10,3 \times 9,8 \times 11,4$ см

Figure 1

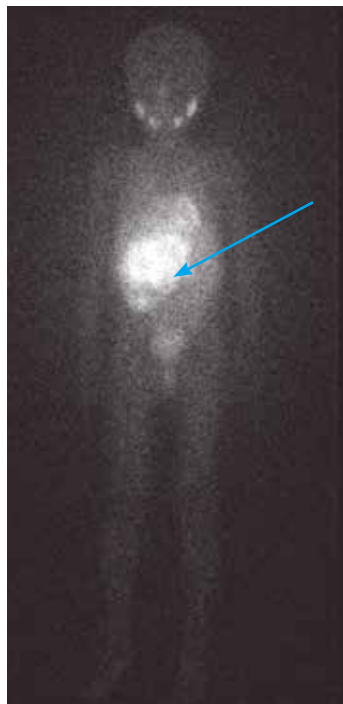
Multislice computed tomography (MSCT) of the abdominal cavity organs at the time of diagnosis of neuroblastoma (venous phase, axial and coronal planes). In the retroperitoneum on the right, there is a conglomerate of tumour tissue and enlarged lymph nodes going beyond the midline (blue arrows). It extends to the porta hepatis and both kidneys and invades the parenchyma of the right kidney (red arrow). The mass is up to $10.3 \times 9.8 \times 11.4$ cm in size, has blurred uneven contours and inhomogeneous structure due to the presence of hypodense areas (decay) and hyperdense inclusions (hemorrhages, calcifications)

**Рисунок 2**

Сцинтиграфия с ^{123}I -МИБГ в момент постановки диагноза НБ (планарное изображение). Определяется очаг патологического накопления РФП в объемном образовании забрюшинного пространства (синяя стрелка)

Figure 2

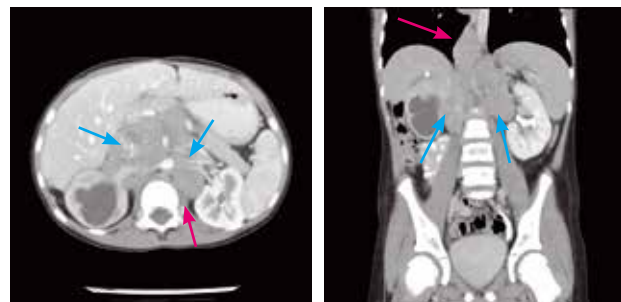
^{123}I -meta-iodobenzylguanidine (^{123}I -MIBG) scintigraphy at the time of diagnosis of neuroblastoma (a planar image) showing a focus of abnormal uptake of the radiopharmaceutical agent in the space-occupying mass of the retroperitoneum (blue arrow)

**Рисунок 3**

МСКТ ОГК и ОБП в момент рецидива НБ (аксиальная и коронарная проекции, венозная фаза сканирования). Отмечается отрицательная динамика за счет появления в средостении многочисленных увеличенных лимфоузлов неоднородной структуры за счет мелких кальцинатов, неравномерно накапливающих контрастный препарат (красная стрелка). В забрюшинном пространстве живота наблюдаются патологическое образование и конгломерат лимфоузлов размерами $8,5 \times 8,4 \times 11,5$ см ($V = 427\text{см}^3$), неоднородной структуры за счет кальцинатов, с неравномерным накоплением контрастного препарата, переходящее за среднюю линию (синие стрелки)

Figure 3

MSCT of the thoracic organs and the abdominal cavity organs at the time of neuroblastoma relapse (axial and coronal planes, venous phase). The MSCT scans reveal negative changes consisting in the presence of numerous enlarged lymph nodes in the mediastinum that are characterized by inhomogeneous structure due to small calcifications showing irregular contrast uptake (red arrow). In the retroperitoneal space of the abdomen, there is a pathological mass ($8.5 \times 8.4 \times 11.5$ cm, $V = 427\text{ cm}^3$) and a conglomerate of lymph nodes with inhomogeneous structure due to calcifications and irregular contrast uptake, extending beyond the midline (blue arrows)



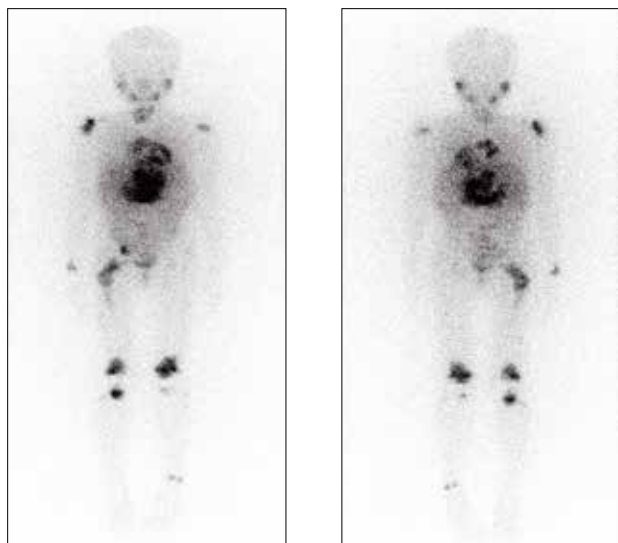
на фоне интенсивной химиотерапии, приводя к смертельному исходу, до спонтанной регрессии опухоли у детей раннего возраста [10]. В 1970-е годы стандарт терапии пациентов с НБ включал в себя химиотерапию, лучевую терапию и хирургическое лечение. При более детальном изучении особенностей данной опухоли был выявлен ряд факторов, влияющих на течение заболевания и прогноз. Одним из этих факторов являются цитогенетические особенности опухоли, которые в настоящее время и являются одним из важнейших критериев стратификации пациентов на группы риска, благодаря чему положено начало современному риск-адаптированному подходу к терапии. В 1990-е годы было показано, что применение высокодозной химиотерапии с аутологичной ТГСК улучшает общую выживаемость пациентов с НБ группы высокого риска, и теперь данная стратегия является стандартом лечения таких больных [11]. В связи с этим в течение последних десятилетий для пациентов с НБ был разработан риск-адаптированный протокол терапии, где больные группы высокого риска получают более интенсивное комплексное лечение (химиотерапия, лучевая терапия, хирурги-

Рисунок 4

Сцинтиграфия с ^{123}I -МИБГ в момент рецидива НБ (планарные изображения). Определяются множественные очаги патологического накопления РФП в проекции головы, грудной клетки, забрюшинного пространства, таза, верхних и нижних конечностей, что свидетельствует о наличии активной специфической ткани нейрогенной природы

Figure 4

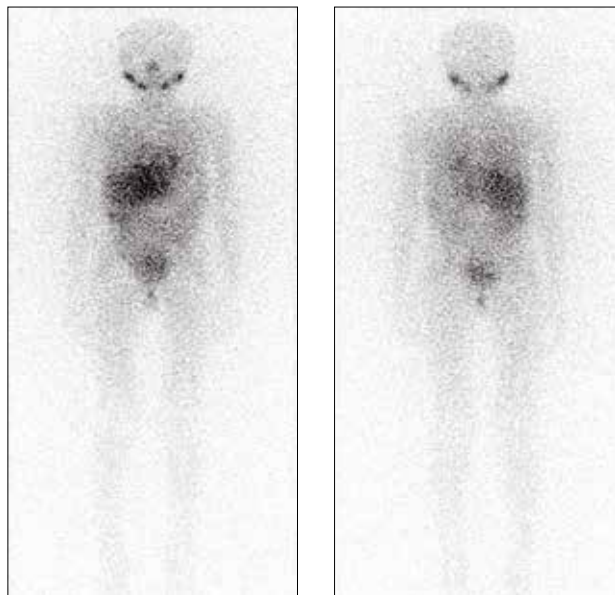
^{123}I -MIBG scintigraphy at the time of neuroblastoma relapse (planar images). At the time of investigation, there were numerous foci of abnormal uptake of the radiopharmaceutical agent in the projection of the head, the chest, the retroperitoneum, the pelvis and the upper and lower limbs, indicating the presence of the active specific tissue of neurogenic origin

**Рисунок 5**

Сцинтиграфия с ^{123}I -МИБГ в момент диагностики вторичного ОМЛ (планарные изображения). На момент исследования аномальных очагов накопления РФП не выявлено, определяется его физиологическое (слюнные железы, миокард, печень, левый надпочечник) распределение

Figure 5

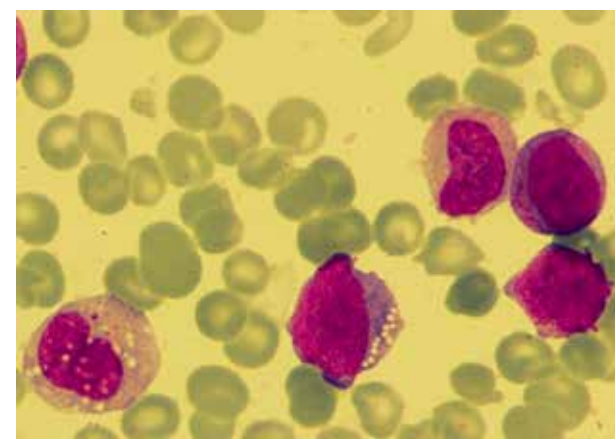
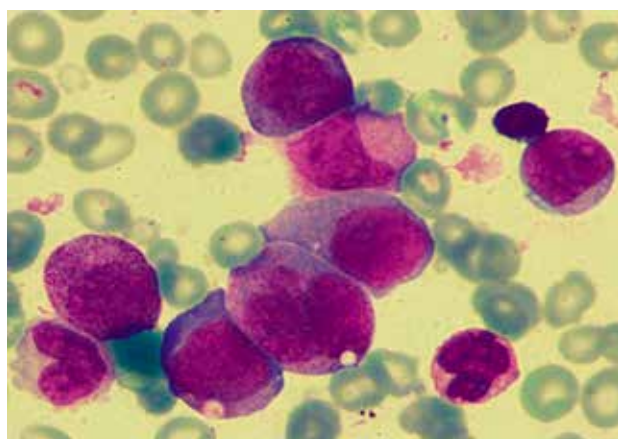
^{123}I -MIBGscintigraphy at the time of diagnosis of secondary acute myeloid leukemia (planar images). At the time of investigation, there were no foci of abnormal uptake of the radiopharmaceutical agent. The salivary glands, the myocardium, the liver and the left adrenal gland demonstrated physiological ^{123}I -MIBG uptake

**Рисунок 6**

Морфологическая картина пунктата костного мозга: в составе преобладают бластные клетки (окраска по Май-Грюнвальду и Романовскому). Окулярлы 10 × 22, объектив × 100

Figure 6

Morphologic pattern, bone marrow aspirate: the predominance of blast cells (May-Grünwald and Romanowsky staining, ocular lenses 10 × 22, an objective 100×)



ческое лечение, терапия ^{131}I -МИБГ, высокодозная химиотерапия, иммунотерапия) в отличие от пациентов группы низкого риска [12]. Таким образом, внедрение современных схем лечения привело к улучшению показателей выживаемости пациентов с НБ в группе высокого риска [13] при использовании интенсивного лечения и в группе низкого риска при

минимизации лечения или даже отказе от него. Все это обусловлено контролем за ОПЭ в попытке их уменьшения в группе пациентов, которые потенциально имеют более благоприятный прогноз. Однако для больных с НБ группы высокого риска интенсификация терапии, несмотря на улучшение показателей выживаемости, приводит к относительно высокой

частоте развития ОПЭ, среди которых наиболее грозным и значимым является развитие вторичного ЗНО.

В ретроспективной работе М. Applebaum при изучении историй болезни 2801 случая НБ в базе данных Программы регистрации статистических данных по онкологической заболеваемости и смертности (Surveillance, Epidemiology, and End Results Program) в США за период с 1973 по 2006 г. было выявлено развитие вторичных ЗНО в 1,2% случаев [14]. Показано, что у пациентов с НБ группы высокого риска частота развития вторичных ЗНО выше и составляет 1,8% (95% доверительный интервал (ДИ): 1,0–2,6) в сравнении с пациентами промежуточного риска: 0,38% (95% ДИ: 0,22–0,94) ($p = 0,01$) [15]. Однако и у пациентов с НБ группы низкого риска, которые в основном подвергаются только хирургическому вмешательству, также могут встречаться вторичные ЗНО, вероятно, в связи с наличием генетической предрасположенности.

Развитие вторичных ЗНО может быть обусловлено несколькими факторами, в первую очередь применением ряда химиопрепаратов, а именно высоких доз алкилирующих агентов (тиотепа, мелфалан, циклофосфамид, ифосфамид), ингибиторов топоизомеразы II (этопозид) и производных платины (цисплатин, карбоплатин) [16, 17].

В литературе описываются несколько исследований, которые подтверждают, что частота вторичных ЗНО в популяции детей с НБ зависит от кумулятивных доз химиопрепаратов. Так, В.Н. Kushner в своей работе показал, что 5-летняя кумулятивная заболеваемость вторичного ОМЛ/миелодиспластического синдрома составила 1,46% в группе пациентов, которые получили 5 курсов химиотерапии, 2,28% – в группе больных, прошедших 6 курсов химиотерапии, и 8,47% – среди пациентов после 7 курсов химиотерапии, т. е. интенсивность химиотерапии коррелировала с частотой развития вторичных ЗНО ($p = 0,048$) [17]. А. Martin и соавт. показали, что частота встречаемости вторичных ЗНО выше у пациентов с НБ группы высокого риска после проведения высокодозной химиотерапии с последующей аутологичной ТГСК. Кроме того, отмечено, что с увеличением времени наблюдения за пациентами после терапии частота встречаемости вторичных ЗНО возрастала. Так, 10-летняя и 15-летняя кумулятивная заболеваемость вторичными ЗНО у пациентов с НБ составила 16,5% (95% ДИ: 7,2–38,0) и 34,2% (95% ДИ: 18,6–63,1) соответственно, и после 15 лет частота встречаемости вторичных ЗНО не была выше [18].

Вторым фактором, приводящим к развитию вторичных ЗНО, является лучевая терапия. В 2003 г. С. Rubino и соавт. отметили, что риск развития

вторичных ЗНО после лучевой терапии у пациентов с НБ выше (относительный риск (ОР) = 4,3, 95% ДИ: 0,8–78), чем у тех, кто получал только химиотерапию (ОР = 0,4, 95% ДИ: 0,1–1,9). Также в этой работе подчеркивается важность длительного наблюдения детей после лечения, особенно в течение 30 лет из-за повышенного риска развития вторичных ЗНО в данной возрастной группе [19].

Третьим компонентом терапии, предрасполагающим к развитию вторичных ЗНО у пациентов с НБ, является радиоизотопное лечение. Отдаленные последствия ^{131}I -МЙБГ-терапии были проанализированы в работе А. Garaventa и соавт. За период с 1984 по 2001 г., ретроспективно проанализировав 119 историй болезни пациентов, авторы выявили, что у 5 из 119 больных с НБ развились вторичные ЗНО в виде вторичного ОМЛ, ангиоматозной фиброзной гистиоцитомы, злокачественной шванномы, рабдомиосаркомы [20].

Сочетание вышеуказанных терапевтических факторов приводит к более высокому риску развития вторичных ЗНО.

Основные виды вторичных ЗНО у пациентов с НБ представлены саркомами мягких тканей, опухолями костей и лейкозами. Описаны частота и характер развития вторичных ЗНО в зависимости от вида терапии. У пациентов, получавших лучевую терапию на область шеи и средостения, чаще развивается рак щитовидной и молочной желез и опухоли головного мозга. В то же время было отмечено, что у пациентов после комбинированного лечения выявлены остеосаркомы и саркомы мягких тканей, тогда как вторичный ОМЛ встречался у пациентов только после химиотерапии [19].

В 2017 г. исследовательской группой М. Applebaum и соавт. показано, что для пациентов с НБ группы высокого риска стандартизированное отношение заболеваемости вторичным ОМЛ составило 106,8 (95% ДИ: 28,7–273,4) в сравнении с пациентами группы промежуточного риска: 127,7 (95% ДИ: 25,7–373,3) [15].

Вторичный ОМЛ – это ЗНО, признанное как отдельная единица заболевания в классификации Всемирной организации здравоохранения, которое может развиваться в том числе и у пациентов, ранее получивших химиолучевую терапию по поводу гематологических или онкологических ЗНО, а также возможно у пациентов, которые ранее не получали химиотерапию [21]. Считается, что вторичный ОМЛ у пациентов после терапии по поводу НБ развивается из-за прямого мутационного воздействия химиотерапевтических агентов [22]. Согласно литературным данным, по срокам развития неблагоприятного события выделяют ранний и поздний вторичные ОМЛ. Время до возникновения позднего вторичного ОМЛ

составляет от 5 до 10 лет, и он связан с применением в терапии высоких доз алкилирующих препаратов (тиотепа, мелфалан, циклофосфамид, ифосфамид). Ранний вторичный ОМЛ отмечается у пациентов, получивших высокие дозы ингибиторов топоизомеразы II (этопозид). Он, как правило, развивается в течение первых 2 лет от момента воздействия этих препаратов [23]. Было показано, что пациенты, получившие терапию ингибиторами топоизомеразы II в дозе от 1200 до 6000 мг/м² или антрациклины в дозе более 170 мг/м², имели риск развития вторичного ОМЛ в 7 раз выше (95% ДИ: 2,6–19) в сравнении с больными, которые получили терапию более низкими дозами [24].

Особенностью нашего случая является развитие раннего вторичного ОМЛ у ребенка с НБ группы промежуточного риска, который получил программную терапию по протоколу NB-2004, а в последующем интенсивную противорецидивную терапию, включающую аутологичную ТГСК и метронульную терапию. Следует отметить, что, учитывая плохую переносимость метронульной терапии, требующей пауз в лечении и редукции дозы препаратов,

точный расчет кумулятивных доз циклофосфамида и этопозидов представляется затруднительным.

При анализе литературных данных обращают на себя внимание цитогенетические аномалии при развитии вторичного ОМЛ. Например, при вторичном ОМЛ возможно наличие комплексного кариотипа, имеющего в своем составе не менее 3 хромосомных аномалий, что ассоциировано с плохим прогнозом. Это было отмечено в исследовательской работе W. Kern в 2004 г., где общая выживаемость у пациентов с вторичным ОМЛ и нормальным кариотипом достигала 26,7 мес, в сравнении с 5,6 мес у больных с комплексным кариотипом [25]. Показано, что воздействие антрациклинов и ингибиторов топоизомеразы II вызывает перестройки гена *MLL* в локусе 11q23 и реже гена *AML1* (*RUNX1/CBFA2*) в локусе 21q22. В то же время поздний вторичный ОМЛ сопровождается моносомией 5-й или 7-й хромосомы [23]. В работе M. Applebaum и соавт. оценена потенциальная связь между патогенными герминальными мутациями и развитием вторичных ЗНО у пациентов с НБ после терапии. Так, например, мутация гена *MSH2* была связана с повышенным риском вторичного ОМЛ [15].

Таблица

Сравнительная характеристика рецидива НБ и вторичного ОМЛ

Table

A comparative analysis of neuroblastoma relapse and secondary acute myeloid leukemia

Дифференциальный ряд Differential diagnoses	Рецидив НБ Neuroblastoma relapse	Вторичный ОМЛ Secondary acute myeloid leukemia
Лихорадка, интоксикация Fever, intoxication	Да Yes	Да Yes
Увеличение печени, селезенки и лимфатических узлов Enlarged liver, spleen and lymph nodes	При метастатическом поражении могут быть увеличены печень, лимфатические узлы. Селезенка обычно нормальных размеров In case of metastatic involvement, liver and lymph nodes may be enlarged. Spleen is usually of normal size	Увеличение печени, селезенки и лимфатических узлов регистрируется у 30–50% пациентов Enlarged liver, spleen and lymph nodes are seen in 30–50% of patients
Гемограмма с подсчетом лейкоцитарной формулы Complete blood count with differential	Анемия, тромбоцитоз (редко); лейкопения/тромбоцитопения (редко, при метастатическом поражении костного мозга) Anemia, thrombocytosis (rare); leukopenia/thrombocytopenia (rare, in patients with metastatic involvement)	Анемия, тромбоцитопения (часто), лейкопения/лейкоцитоз, бластные клетки Anemia, thrombocytopenia (often), leukopenia/leukocytosis, blast cells
Миелограмма Bone marrow examination	Наличие атипичных клеток НБ, формирующих розетки The presence of atypical neuroblastoma cells forming rosettes	Популяция бластных клеток более 20% The percentage of blast cells is over 20%
Цитогенетическое исследование костного мозга Cytogenetic analysis of bone marrow	Амплификация гена <i>MYCN</i> , делеции 1p, 11q <i>MYCN</i> gene amplification, 1p, 11q deletions	Чаще всего: транслокации, вовлекающие 11q23, моносомия 7, комплексный кариотип [26] In most cases: translocations involving 11q23, monosomy 7, complex karyotype [26]
Сцинтиграфия с ¹²³ I- МИБГ ¹²³ I-MIBG scintigraphy	Патологическое накопление РФП Abnormal uptake of the radiopharmaceutical agent	Отсутствие патологического накопления РФП No abnormal uptake of the radiopharmaceutical agent
МСКТ, магнитно-резонансная томография, УЗИ MSCT, magnetic resonance imaging, ultrasound examination	Выявляемые опухолевые массы Tumour masses	Возможно наличие специфических инфильтратов (хлором) Specific infiltrates (chloromas) may be detected
Онкомаркеры Tumour markers	Повышение нейронспецифической енолазы, лактатдегидрогеназы Elevated levels of neuron specific enolase, lactate dehydrogenase	Повышение лактатдегидрогеназы Elevated levels of lactate dehydrogenase
Метаболиты катехоламинов: ванилилминдальная и гомованилиновая кислоты в сыворотке крови и моче Catecholamine metabolites: Vanillylmandelic and homovanillic acids in serum and urine	Повышение Elevated values	Норма Normal values

Принимая во внимание то, что у пациентов с НБ как позднее осложнение после лечения возможно развитие вторичного ОМЛ, его необходимо включать в дифференциальный ряд вместе с рецидивом НБ при наличии клинической симптоматики [18]. В таблице указана сравнительная характеристика клинических и лабораторно-инструментальных данных при развитии рецидива НБ и вторичного ОМЛ.

В литературе были описаны случаи, когда отмечалось развитие вторичного ОМЛ и острого лимфобластного лейкоза на фоне активного лечения НБ [27, 28]. М. Theresa и соавт. представили описание клинического случая развития вторичного ОМЛ у 9-летнего мальчика с НБ 4-й стадии, у которого при появлении клиники после завершения терапии по поводу основного заболевания в костном мозге присутствовали клетки НБ и бластные клетки с миелоидными чертами дифференцировки [29]. Пациент погиб через 2 нед индукционной терапии.

Прогноз больных с вторичным ОМЛ может различаться, так как зависит от многих факторов риска, но в сравнении с пациентами с *de novo* ОМЛ считается менее благоприятным. Главными проблемами терапии являются массивная предлеченность пациентов по поводу основного заболевания, а также длительная аплазия кроветворения, ведущая к высоким рискам развития тяжелых инфекций. Кроме того, цитогенетические аномалии при вторичном ОМЛ могут быть ассоциированы с неблагоприятным прогнозом. Также показано, что вторичный ОМЛ, связанный с применением ингибиторов топоизомеразы II, имеет худший прогноз в сравнении с вторичным ОМЛ, который развился на фоне высоких доз антрациклинов [23].

В настоящее время проводятся исследования, направленные на выявление патогенных герминальных мутаций в генах, участвующих в репарации ДНК и оказывающих влияние на частоту развития вторичных ЗНО у пациентов со злокачественными опухолями. Так, N. Qin и соавт. было отмечено, что мутации в генах, участвующие в репарации ДНК,

могут быть связаны с повышенным риском развития сарком у пациентов после воздействия высоких доз алкилирующих агентов (ОР = 14,9; 95% ДИ: 4,0–38,0), рака молочной железы у женщин, получивших ранее лучевую терапию на органы грудной клетки ≥ 20 Гр (ОР = 4,4; 95% ДИ: 1,6–12,4) или высокие кумулятивные дозы антрациклинов (ОР = 4,4; 95% ДИ: 1,7–11,4) [30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интерес данного клинического наблюдения обусловлен редкостью вторичного ОМЛ в исходе НБ и сложностью диагностики. При появлении клинической симптоматики у пациентов, излечившихся от НБ, в круг дифференциально-диагностического поиска необходимо включать вторичный ОМЛ. В описанном нами случае ремиссия у пациента была достигнута благодаря ранней диагностике и проведению современной антилейкемической терапии, включая аллогенную ТГСК. Генетические исследования должны быть направлены на выявление герминальных мутаций, предрасполагающих к развитию вторичного ОМЛ. Для таких пациентов должны быть выбраны адаптированные схемы химиотерапии с меньшим риском развития вторичных ЗНО и разработаны программы длительного катамнестического наблюдения.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Utalieva D.T. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7479-0007>

Kalinina I.I. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0813-5626>

Kachanov D.Yu. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3704-8783>

Evseev D.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8610-0624>

Shcherbakov A.P. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8129-0545>

Likar Yu.N. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6158-2222>

Moiseenko R.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9654-084X>

Shamanskaya T.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3767-4477>

Литература

1. Morgan J.E., Walker R., Harden M., Phillips R.S. A systematic review of evidence for and against routine surveillance imaging after completing treatment for childhood extracranial solid tumors. *Cancer Med* 2020; 9 (14): 4949–61. DOI: 10.1002/cam4.3110
2. Gibson M.T., Mostoufi-Moab S., Stratton K.L., Leisenring W.M., Barnea D., Chow E.J., et al. Temporal patterns in the risk of chronic health conditions in survivors of childhood cancer diagnosed 1970–99: a report from the Childhood Cancer Survivor Study cohort. *Lancet Oncol* 2018; 19 (12): 1590–601. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30537-0
3. American Academy of Pediatrics Section on Hematology/Oncology Children's Oncology Group. Long-term Follow-up Care for Pediatric Cancer Survivors. *Pediatrics* 2009; 123 (3): 906–15. DOI: 10.1542/peds.2008-3688
4. Elzembely M.M., Dahlberg A.E., Pinto N., Leger K., Chow E., Park R., et al. Late effects in high-risk neuroblastoma survivors treated with high-dose chemotherapy and stem cell rescue. *Pediatr Blood Cancer* 2019; 66 (1): e27421. DOI: 10.1002/pbc.27421

5. Friedman D.N., Henderson T.O. Late Effects and Survivorship Issues in Patients with Neuroblastoma. *Children (Basel)* 2018; 5 (8): 107. DOI: 10.3390/children5080107
6. Laverdière C., Cheung N.V., Kushner B.H., Kramer K., Modak S., LaQuaglia M.P., et al. Long-term complications in survivors of advanced stage neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 2005; 45 (3): 324–32. DOI: 10.1002/pbc.20331
7. Laverdière C., Liu Q., Yasui Y., Nathan P.C., Gurney J., Stovall M., et al. Long-term outcomes in survivors of neuroblastoma: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101 (16): 1131–40. DOI: 10.1093/jnci/djp230
8. Berthold F., Hömberg M., Proleskovskaya I., Mazanek P., Belogurova M., Ernst A., et al. Metronomic therapy has low toxicity and is as effective as current standard treatment for recurrent high-risk neuroblastoma. *Pediatr Hematol Oncol* 2017; 34 (5): 308–19. DOI: 10.1080/08880018.2017.1373314
9. Goodman M.S., Gurney J.G., Smith M.A., Olshan A.F. Sympathetic nervous system tumors. In: Ries L.A.G., Smith M.A., Gurney J.G., et al. (eds). *Cancer Incidence and Survival among Children and Adolescents: United States SEER Program 1975–1995*, National Cancer Institute, SEER Program. NIH Pub. No. 99–4649. Bethesda, MD; 1999. P. 65–72.
10. D'Angio G.J., Evans A.E., Koop C.E. Special pattern of widespread neuroblastoma with a favourable prognosis. *Lancet* 1971; 1 (7708): 1046–9. DOI: 10.1016/S0140-6736(71)91606-0
11. Seeger R.C., Reynolds C.P. Neuroblastoma. In: *Bone Marrow Transplantation*. Ed. by Forman S.J., Blume K.G., Thomas E.D. Cambridge, England: Blackwell; 1994. Pp. 814–826.
12. Thorsten S., Barbara H., Schulte J.H., Deubzer H., Hundsdoerfer P., von Schweinitz D., et al. 2017 GPOH Guidelines for Diagnosis and Treatment of Patients with Neuroblastic Tumors. *Klin Padiatr* 2017; 229 (3): 147–67. DOI: 10.1055/s-0043-103086
13. Moroz V., Machin D., Faldum A., Hero B., Iehara T., Mosseri V., et al. Changes over three decades in outcome and the prognostic influence of age-at-diagnosis in young patients with neuroblastoma: a report from the International Neuroblastoma Risk Group Project. *Eur J Cancer* 2011; 47 (4): 561–71. DOI: 10.1016/j.ejca.2010.10.022
14. Applebaum M.A., Henderson T.O., Lee S.M., Pinto N., Volchenbom S.L., Cohn S.L. Second malignancies in patients with neuroblastoma: the effects of risk-based therapy. *pediatr. Blood Cancer* 2015; 62 (1): 128–33. DOI: 10.1002/pbc.25249
15. Applebaum M.A., Vaksman Z., Lee S.M., Hungate E.A., Henderson T.O., London W.B., et al. Neuroblastoma Survivors are at Increased Risk for Second Malignancies: A Report from the International Neuroblastoma Risk Group Project. *Eur J Cancer* 2017; 72: 177–85. DOI: 10.1016/j.ejca.2016.11.022
16. Kreissman S.G., Seeger R.C., Matthay K.K., London W.B., Spoto R., Grupp S.A., et al. Purged versus non-purged peripheral blood stem-cell transplantation for high-risk neuroblastoma (COG A3973): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14 (10): 999–1008. DOI: 10.1016/S1470-2045(13)70309-7
17. Kushner B.H., Kramer K., Modak S., Qin L.X., Yataghena K., Jhanwar S.C., et al. Reduced risk of secondary leukemia with fewer cycles of dose-intensive induction chemotherapy in patients with neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 53 (1): 17–22. DOI: 10.1002/pbc.21931
18. Martin A., Schneiderman J., Helenowski I.B., Morgan E., Dilley K., Danner-Koplik K., et al. Secondary Malignant Neoplasms After High-Dose Chemotherapy and Autologous Stem Cell Rescue for High-Risk Neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 2014; 61 (8): 1350–6. DOI: 10.1002/pbc.25033
19. Rubino C., Adjadj E., Guérin S., Guibout C., Shamsaldin A., Dondon M., et al. Long-term risk of second malignant neoplasms after neuroblastoma in childhood: role of treatment. *Int J Cancer* 2003; 107 (5): 791–6. DOI: 10.1002/ijc.11455
20. Garaventa A., Gambini C., Villavecchia G., Cataldo A.D., Bertolazzi L., Pizzitola M.R., et al. Second Malignancies in Children with Neuroblastoma after Combined Treatment with 131I-metaiodobenzylguanidine. *Cancer* 2003; 97 (5): 1332–8. DOI: 10.1002/cncr.11167
21. Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R., Thiele J., Borowitz M. J., Beau M., 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
22. Smith M.A., Rubinstein L., Ungerleider R.S. Therapy-Related Acute Myeloid Leukemia Following Treatment with Epipodophyllotoxins: Estimating the Risks. *Med Pediatr Oncol* 1994; 23 (2): 86–98. DOI: 10.1002/mpo.2950230205
23. Godley L.A., Larson R.A. Therapy-related myeloid leukemia. *Semin Oncol* 2008; 35 (4): 418–29. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2008.04.012
24. Deley L., Leblanc T., Shamsaldin A., Raquin M.A., Lacour B., Sommelet D., et al. Risk of Secondary Leukemia After a Solid Tumor in Childhood According to the Dose of Epipodophyllotoxins and Anthracyclines: A Case-Control Study by the Société Française d'Oncologie Pédiatrique. *J Clin Oncol* 2003; 21 (6): 1074–81. DOI: 10.1200/JCO.2003.04.100
25. Kern W., Haferlach T., Schnittger S., Hiddemann W., Schoch C. Prognosis in Therapy-Related Acute Myeloid Leukemia and Impact of Karyotype. *J Clin Oncol* 2004; 22 (12): 2510–1. DOI: 10.1200/JCO.2004.99.301
26. Cho H.W., Choi Y.B., Yi E.S., Lee J.W., Sung K.W., Koo H.H., et al. Therapy-related myeloid neoplasms in children and adolescents. *Blood Res* 2016; 51 (4): 242–8. DOI: 10.5045/br.2016.51.4.242
27. Santos-Machado T.M., Zerbini M.C., Cristofani L.M., Azevedo P.M., Almeida M.T., Maluf P.T. Jr, Odone-Filho V. Simultaneous occurrence of advanced neuroblastoma and acute myeloid leukemia. *Pediatr Hematol Oncol* 2001; 18 (2): 129–35. DOI: 10.1080/088800101300002964
28. Vafaie M., Jaseb K., Fekri K., Haghi S. Simultaneous occurrence of advanced neuroblastoma and acute lymphoblastic leukemia: a case report. *Middle East J Cancer* 2011; 2 (1): 33–6.
29. Sylvia M.T., Rani J., Basu D., Kar R., Dubashi B. Concurrent Presentation of Therapy Related Acute Myeloid Leukemia in a Case of Neuroblastoma. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2016; 32 (Suppl 1): 11–4. DOI: 10.1007/s12288-015-0518-1
30. Qin N., Wang Z., Liu Q., Song N., Wilson C.L., Ehrhardt M.J., et al. Pathogenic Germline Mutations in DNA Repair Genes in Combination with Cancer Treatment Exposures and Risk of Subsequent Neoplasms Among Long-Term Survivors of Childhood Cancer. *J Clin Oncol* 2020; JCO1902760 DOI: 10.1200/JCO.19.02760

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 03.05.2020
Принята к печати 22.06.2020

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-114-120

Редкий случай комбинированного иммунодефицита с делецией длинного плеча хромосомы 11(q) – синдром Якобсена

Н.Б. Кузьменко, О.А. Швеца, А.А. Мухина

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Контактная информация:

Кузьменко Наталья Борисовна,
канд. мед. наук, заведующая отделом
эпидемиологии и мониторинга
иммунодефицитов,
врач-аллерголог-иммунолог
консультативного отделения
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: plunge@list.ru

Синдром Якобсена (СЯ) – редкий комбинированный иммунодефицит, связанный с частичной делецией длинного плеча 11-й хромосомы. Клинические проявления данного заболевания включают задержку физического и умственного развития, дисморфизм лица (деформации черепа, гипертелоризм, птоз, колобому, эпикантальные складки, широкую переносицу, маленький нос, V-образный рот, маленькие низко посаженные уши), пороки развития сердца, почек, желудочно-кишечного тракта, гениталий, центральной нервной системы и скелета, а также нарушение функции тромбоцитов, гуморального и клеточного звеньев иммунной системы. В статье приведено клиническое наблюдение пациентки с СЯ с делецией хромосомы 11(q) и клиническим фенотипом, включающим дисморфизмы лица, врожденные пороки развития, неврологическую симптоматику, а также клинические и лабораторные проявления иммунодефицита, четко охарактеризованы проявления дисрегуляции. Родители пациентки дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: синдром Якобсена, делеция хромосомы 11(q), комбинированный иммунодефицит, иммунная дисрегуляция

Кузьменко Н.Б. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 114–120. DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-114-120

A rare case of combined immunodeficiency due to a deletion of 11(q) – Jacobsen syndrome

N.B. Kuzmenko, O.A. Shvets, A.A. Mukhina

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

Jacobsen syndrome (JS) is a rare combined immunodeficiency caused by partial deletion of the long arm of chromosome 11. Clinical features include physical growth retardation, psychomotor retardation, characteristic facial dysmorphism (skull deformities, hypertelorism, ptosis, coloboma, epicanthal folds, broad nasal bridge, short nose, v-shaped mouth, small low set ears). Patients commonly have malformations of the heart, kidney, gastrointestinal tract, genitalia, central nervous system and skeleton. Abnormal platelet function and immunological problems are usually present. Here we describe a patient with deletion of 11(q) chromosome resulting in clinical phenotype of the facial dysmorphisms, congenital malformations, neurological symptoms, as well as clinical and laboratory features of immunodeficiency. Features of immune dysregulation in a patient with JS are clearly characterized. Patient's parents agreed to use personal data and photos in research and publications.

Key words: Jacobsen syndrome, del 11(q), combined immunodeficiency, immune dysregulation

Kuzmenko N.B., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 114–120. DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-114-120

Синдром Якобсена (СЯ) вызван частичной делецией 11-й хромосомы и впервые был описан датским врачом П. Якобсеном в 1973 г. [1, 2]. Делеция обычно захватывает терминальную часть длинного (q) плеча 11-й хромосомы, поэтому СЯ также известен как синдром делеции дистальной части длинного плеча 11-й хромосомы. Размер делеции варьирует от 5 до 20 Мб и локализуется в диапазоне 11q23.3 или дистальнее. Ранее были описаны случаи СЯ с частичной делецией 5 Мб [1, 3].

Особенности фенотипа при СЯ, вероятно, связаны с потерей множества генов, расположенных на 11-й хромосоме. В зависимости от размера делетированной области может содержать 340 генов и более, функциональная значимость большинства из которых до конца

не известна [2, 4]. Однако гены этого региона, по-видимому, имеют большое значение для нормального развития различных органов и систем, включая скелет, сердце, почки, иммунную и нервную системы.

Методы, которые обычно используются для поиска делеции при СЯ, включают флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH) и сравнительную геномную гибридизацию [2]. В первом случае используются флуоресцентные красители для визуализации под микроскопом количества копий хромосом [5]. Тем не менее в редких случаях к СЯ приводят более мелкие нарушения, которые невозможно увидеть с помощью микроскопа. Сравнительная геномная гибридизация с использованием микрочипов является более чувствительным методом. При помощи

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 03.05.2020

Accepted 22.06.2020

Correspondence:

Natalia B. Kuzmenko, MD, PhD,
the Head of the Department
of Epidemiology and Monitoring
of Immunodeficiencies, Dmitry Rogachev
National Medical Research Center
of Pediatric Hematology, Oncology
and Immunology, Ministry of Healthcare
of Russian Federation
Address: 117997, Russia, Moscow,
Samory Mashela st., 1
E-mail: plunge@list.ru

этой техники можно оценить делеции и дупликации разного размера [6].

В большинстве случаев СЯ не передается по наследству, а возникает *de novo* в результате случайного события во время образования репродуктивных клеток родителей (яйцеклеток или сперматозоидов) или на ранних стадиях развития плода. Однако от 5 до 10% пациентов с СЯ наследуют хромосомную аномалию от клинически здорового родителя. В этих случаях родитель несет хромосомную перестройку, называемую сбалансированной транслокацией, в которой сегмент 11-й хромосомы поменялся местами с сегментом из другой хромосомы. При сбалансированном перемещении генетический материал не приобретается и не теряется, поэтому сбалансированные транслокации обычно не приводят к клиническим проявлениям заболевания, но могут стать причиной болезни в следующем поколении [7, 8].

Дети, которые наследуют несбалансированную транслокацию, могут иметь хромосомную перестройку, в которой часть генетического материала отсутствует, но при этом имеется некоторый дополнительный генетический материал. Пациенты с СЯ, которые наследуют несбалансированную транслокацию, помимо делеции терминальной части длинного плеча 11-й хромосомы получают дополнительный генетический материал из другой хромосомы [7–9].

Клинические проявления СЯ отличаются у разных пациентов и частично зависят от размера конкретного делетированного участка. К настоящему моменту описано более 200 пациентов с СЯ. Некоторые авторы отмечают влияние генов-кандидатов на когнитивные и поведенческие характеристики, проявления иммунодефицита и врожденных аномалий сердца. Наиболее хорошо описаны функции нескольких генов: *ETS1*, *FLI1*, *BSX* и *ARHGAP32* [2, 10–14].

R. Favie и соавт. [2] была предположена корреляция между некоторыми генами и фенотипическими проявлениями при СЯ. В частности, авторы предлагают считать ответственным за врожденные пороки сердца и проявления иммунодефицита отсутствие функции гена *ETS1*. Делетированный ген *FLI1* влияет на дисфункцию тромбоцитов и тромбоцитопению. Задержку умственного развития и расстройств аутистического спектра предполагают за счет делеции генов *BSX* и *ARHGAP32* соответственно [10]. Ген *ETS1* (OMIM 164720) расположен в регионе 11q24.3 и кодирует белок v-ETS, который относится к транскрипционным факторам ETS. Этот транскрипционный фактор участвует в клеточном росте, дифференцировке и пролиферации лимфоидных клеток, ангиогенезе [15, 16]. У мышей с делецией гена *ETS1* описаны дефекты развития Т-, В-, NK-клеток, в связи с чем предполагается, что это может влиять на иммунофенотип [11, 12]. Описано, что при гаплонедостаточности гена *ETS1* развиваются пороки сердца [13].

Ген *FLI1* (OMIM 193067) также расположен в регионе 11q24.3 и кодирует белок FLI1, который играет важную роль в эмбриогенезе, развитии сосудов и мегакариопоэзе [2]. Гетерозиготные мутации в гене *FLI1* связаны с нарушением мегакариопоэза при СЯ [2, 14].

Ген *BSX* (OMIM 611074) расположен в области 11q24 и кодирует ДНК-связывающий белок, который функционирует как активатор транскрипции и экспрессируется в гипоталамусе [17, 18]. Он необходим для нормального роста и развития, а также является важным фактором для нейропептида Y. Ген *ARHGAP32* кодирует ГТФ-активирующий белок, который может принимать участие в дифференцировке нейрональных клеток [2, 19].

Для СЯ характерны особенности развития лицевого скелета, такие как гипертелоризм, птоз, эпикантальные складки, широкая переносица, опущенные углы рта, тонкая верхняя губа и маленькая нижняя челюсть. Часто встречаются макроцефалия и тригоноцефалия, маленькие низко посаженные уши [1, 2, 10, 16, 20].

У большинства пациентов в клинической картине отмечается задержка развития, в том числе речи и двигательных навыков. Многие пациенты имеют когнитивные нарушения и трудности в обучении. Есть сообщения о поведенческих проблемах, включая компульсивное поведение, синдром гиперактивности с дефицитом внимания. СЯ также связан с повышенной вероятностью расстройств аутистического спектра, которые характеризуются нарушением навыков общения и социализации [1, 2, 20].

Кроме описанных выше признаков для СЯ характерны задержка физического развития и роста, различные аномалии скелета, пороки развития сердца, желудочно-кишечного тракта, почек и половой системы. Могут быть нарушения со стороны эндокринной системы, зрения и слуха [1, 2, 20].

У значительной части пациентов с СЯ (более 90%) отмечаются тромбоцитопения Парис-Труссо с дисмегакариопоэзом [2, 21].

Рецидивирующие инфекции и изменения иммунологических показателей многократно были описаны у пациентов с СЯ, однако заболевание лишь недавно было расценено как врожденный дефект иммунной системы и включено в последнюю классификацию первичных иммунодефицитов, опубликованную в январе 2020 г. [22]. СЯ отнесен к большой группе комбинированных первичных иммунодефицитных состояний с синдромальными проявлениями, раздел «Дефекты тимуса с врожденными аномалиями».

Распространенность комбинированного иммунодефицита у пациентов с СЯ на настоящий момент неизвестна, так как у большинства из них адекватной оценки состояния иммунной системы не проводилось.

Снижение числа В-лимфоцитов и уровней иммуноглобулинов (Ig) классов A (IgA), M (IgM), G (IgG) у паци-

ентов с СЯ было опубликовано еще в 1998 г. N. Silvent и соавт. [23].

В проспективном исследовании на большой когорте пациентов с СЯ было показано, что у 42 (54%) из 78 обследуемых в возрасте до 30 лет отмечались рецидивирующие отиты и/или синуситы. Однако полноценной оценки гуморальной функции иммунной системы не было проведено [16]. В ряде исследований было показано выраженное снижение всех классов Ig (A, M, G) и нарушение специфического антителообразования в ответ на вакцинацию полисахаридной пневмококковой вакциной, что характерно для пациентов с общей вариабельной иммунной недостаточностью [24].

В более поздних работах представлен анализ иммунологических показателей, включая количество Т-лимфоцитов и ответ лимфоцитов на митогенную стимуляцию, который выявил у некоторых пациентов разных возрастных групп с СЯ признаки комбинированного иммунодефицита [13, 25].

Так, в 2 разных публикациях описаны 3 ребенка с тяжелыми инфекциями, гипогаммаглобулинемией, лимфопенией, отсутствием специфического иммунного ответа на полисахаридный антиген, однако с частично сохраненной функцией Т-лимфоцитов [25, 26]. Снижение показателей Т-лимфоцитов и NK-клеток, помимо сниженных В-клеток памяти, были описаны в еще одном исследовании у нескольких пациентов с СЯ [24]. Интересно, что пациент с подтвержденным впоследствии СЯ был обнаружен с низкими уровнями TREC при скрининге новорожденных на наличие тяжелого комбинированного иммунодефицита [27].

Клинические проявления иммунодефицита у пациентов с СЯ могут иметь различную степень выраженности, однако усугубляются с возрастом при отсутствии лечения. Так, в различных публикациях [24, 28, 29] описаны взрослые пациенты с комбинированным иммунодефицитом при СЯ, у которых частота и выраженность инфекционных эпизодов усугублялись в течение жизни. Одна из пациенток, начиная с 18-летнего возраста, страдала рецидивирующими кондиломами. У нее помимо сниженного уровня IgG, переключенных В-клеток памяти, нарушения специфического антителообразования отмечалось снижение уровня Т-лимфоцитов, а также митогенного ответа [29]. В детском возрасте описанные в этих исследованиях пациенты имели проявления лишь гуморального иммунодефицита.

Приводим описание клинического наблюдения пациентки с СЯ и клинической картиной комбинированного иммунодефицита.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Родители пациентки дали согласие на использование информации, в том числе фотографий

ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Девочка, 12 лет, установлен диагноз СЯ в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Пациентка была консультирована врачом-аллергологом-иммунологом и обследована генетически в связи с наличием синдромальной патологии в сочетании с признаками иммунной дисфункции:

1) лицевой дисморфизм: гипертелоризм, широкая переносица, большой нос, выступающие лобные бугры, тонкая верхняя губа;

2) врожденные пороки развития: полная расщелина верхней губы и твердого неба, деформация наружного носа, синдактилия 2–3 и 4–5 пальцев левой кисти, перимембранозный дефект межжелудочковой перегородки (ДМЖП);

3) когнитивные нарушения: синдром дефицита внимания, трудности в обучении;

4) неврологическая патология в виде эпилепсии;

5) частые инфекционные эпизоды со стороны верхних дыхательных путей, преимущественно синуситы, на фоне гипогаммаглобулинемии, лейкопении;

6) проявления иммунной дисрегуляции в виде артралгий, витилиго, геморрагического колита.

Из анамнеза известно, что девочка родилась от беременности на фоне гестоза I и III триместров, срочных родов, вес 2000 г, рост 47 см. При рождении констатированы задержка внутриутробного развития по гипотрофическому типу II–III степени, множественные пороки развития, угнетение центральной нервной системы, желудочно-кишечные кровотечения, по этому поводу в течение последующих 2 мес находилась на стационарном лечении. В дальнейшем пациентка отставала в психомоторном развитии. В связи с наличием врожденных пороков развития рассматривался диагноз: синдром Патау. Генетический анализ не проводился. В 2-летнем возрасте были выполнены хирургические коррекции расщелины твердого и мягкого неба (хейлопластика, уранопластика), впоследствии проведена коррекция синдактилии левой руки. ДМЖП оперативного лечения не требовал. Вакцинация ребенку не проводилась. В возрасте 6 лет отмечались эпизод зудящих высыпаний на коже туловища, отеки век, межфаланговых и голеностопных суставов без нарушения их подвижности, артралгии. Симптомы были расценены как проявления холодовой крапивницы, в терапии использовался преднизолон коротким курсом с эффектом. Подобный эпизод был зафиксирован спустя 4 года. С 7-летнего возраста отмечались проявления витилиго с увеличением площади поражения с возрастом. С 10 лет дебютировали эпилептические приступы – фокальные с генерализацией по типу обмякания, потерей сознания, диагностирована эпилепсия, подключена противосудорожная

терапия ламотриджином. Пациентка также наблюдалась врачом-неврологом в связи с жалобами на повышенную утомляемость, трудностями в обучении, двигательной расторможенностью, возбудимостью. По данным магнитно-резонансной томографии головного мозга описаны единичные кальцинаты в межполушарной щели и области эпифиза, уменьшение объема вещества гиппокампа на фоне расширения височных рогов боковых желудочков, без нарушения ликвородинамики; объемных образований, а также очаговых поражений не выявлено. Приблизительно в этот же возрастной период стали беспокоить более частые инфекционные эпизоды со стороны верхних дыхательных путей, а при обследовании выявлена гипогаммаглобулинемия: IgG 4,72 г/л, IgM 0,22 г/л, IgA 0,02 г/л. С 11 лет зафиксирована лимфопения до 950 кл/мкл (14%) со снижением Т-лимфоцитов: CD3⁺ 614 тыс/мкл за счет CD4⁺ 312 тыс/мкл, CD8⁺ 273 тыс/мкл, а также умеренный дефицит CD19⁺ 224 тыс/мкл. Спустя 2 мес выявлены лейкопения 2,96 тыс/мкл, незначительная тромбоцитопения: тромбоциты 145 тыс/мкл, нейтропения: нейтрофилы 1,247 тыс/мкл.

По этому поводу ребенок впервые консультирован врачом-аллергологом-иммунологом НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, рекомендовано проведение генетических исследований. При использовании метода FISH исключен синдром делеции 22q11.2. В связи с отсутствием генетических вариантов, объясняющих причину заболевания при проведении секвенирования следующего поколения (NGS) с использованием панели «Иммунологическая», наличием синдромальной патологии пациентке был проведен хромосомный микроматричный анализ (ХМА). В результате проведения ХМА с использованием олигонуклеотидных микроматриц была обнаружена патогенная терминальная микроделеция 11q24.2–q25, размером 7 871 097 п.н. (7,8 Мб), с координатами 127063099–134934196, не захватывающая участок 11q23, но включающая 54 гена, большинство из которых отвечают за классический фенотип СЯ с хорошо описанной функцией: *ETS1*, *FLI1*, *NFRKB*, *THYN1* и *ARHGAP32*. Функциональные особенности некоторых из этих генов описаны выше.

Пациентка была госпитализирована в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в целях оценки степени выраженности дефектов иммунной системы и инициации заместительной терапии внутривенными иммуноглобулинами (ВВИГ). При поступлении: физическое развитие среднее, умеренный дефицит массы тела (индекс массы тела 15,1 кг/м²). Отмечались жалобы на наличие в течение 1 мес более в животе, прожилок крови в стуле, повышение фекального кальпротектина до 205 мкг/г (норма < 50 мкг/г). При осмотре обращали на себя внимание обширные очаги депигментации на коже живота, нижних конечностей (рисунки А, Б);

Рисунок

А, Б – очаги депигментации на коже живота, нижних конечностей; В – признаки лицевого дисморфизма: широкая переносица, гипертелоризм, выступающие лобные бугры, также обращает внимание асимметричное лицо: деформация наружного носа, рубцовая деформация верхней губы вследствие хейлопластики и неба в результате уранопластики; Г – синдактилия 2–3-го и 4–5-го пальцев левой кисти

Figure

А, Б – depigmentation of the abdomen, lower extremities; В – signs of facial dysmorphism: a broad nasal bridge, hypertelorism, protruding frontal tubercles, asymmetric face, deformation of the external nose, cicatricial deformity of the upper lip due to cheiloplasty, cicatricial deformity of the palate due to uranoplasty; Г – syndactyly 2–3 and 4–5 fingers of the left hand



лицевой дисморфизм (широкая переносица, гипертелоризм, выступающие лобные бугры), асимметричное лицо, деформация наружного носа, рубцовая деформация верхней губы вследствие хейлопластики, рубцовая деформация неба вследствие уранопластики (рисунок В), дисфония, дизартрия, синдактилия 2–3 и 4–5 пальцев левой кисти (рисунок Г), уплощение сводов обеих стоп с незначительной вальгусной установкой; по внутренним органам без особенностей, лимфопролиферативного синдрома не зафиксировано, стул до 1–5 раз/день, оформленный или полужидкий с алыми прожилками крови.

За время пребывания в отделении состояние оставалось стабильным. При обследовании обнаружена тромбоцитопения легкой степени 138–150 тыс/мкл, умеренная лейкопения 2,75–4,62 тыс/мкл, преимущественно за счет лимфопении 0,88–1,26 тыс/мкл, без активных очагов инфекции и воспалительной активности. Пунктаты костного мозга со сниженной клеточностью, полиморфные, бластоэз нет, моносомии/делеции 7-й хромосомы методом FISH не выявлено. В связи с наличием желудочно-кишечных кровотечений в анамнезе, умеренной тромбоцитопении, часто встречающихся у подобных пациентов качественных дефектов тромбоцитов, проводилось исследование их функции, не выявившее грубых нарушений.

Таблица 1
Основные иммунологические показатели

Table 1
Main laboratory findings

Основные лабораторные показатели Main laboratory findings	Результат Result	Норма Normal range
Иммуноглобулины сыворотки Serum immunoglobulins		
IgA, г/л IgA, g/l	> 0,257	0,9–2,9
IgM, г/л IgM, g/l	> 0,18	0,6–2
IgG, г/л IgG, g/l	3,65	8,4–16,6
G1, г/л G1, g/l	3,13	3,77–11,31
G2, г/л G2, g/l	1,07	0,68–3,88
G3, г/л G3, g/l	0,29	0,16–0,89
G4, г/л G4, g/l	0,22	0,01–1,7
IgE, ед/мл IgE, u/ml	9,29	0–100
Иммунофенотипирование лимфоцитов крови Immune cells assay		
CD3 (Т-лимфоциты), % от лимфоцитов CD3 (T- lymphocytes) from LYM, %	76	66–76
CD3 (Т-лимфоциты), × 10 ⁶ /мл CD3 (T- lymphocytes), × 10 ⁶ /ml	0,73	1,4–2
CD3/4 (Т-хелперы), % от CD3 ⁺ CD3/4 (T-helper) from CD3 ⁺ , %	39	33–41
CD3/4 (Т-хелперы), × 10 ⁶ /мл CD3/4 (T-helper), × 10 ⁶ /ml	0,37	0,7–1,1
CD3/8 (Т-цитотоксические), % от CD3 ⁺ CD3/8 (T-cytolytic) from CD3 ⁺ , %	34	27–35
CD3/8 (Т-цитотоксические), × 10 ⁶ /мл CD3/8 (T- cytolytic), × 10 ⁶ /ml	0,32	0,6–0,9
CD19 (В-лимфоциты), % от лимфоцитов CD19 (B- lymphocytes) от LYM, %	3,9	12–22
CD19 (В-лимфоциты), × 10 ⁶ /мл CD19 (B- lymphocytes), × 10 ⁶ /ml	0,12	0,3–0,5
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ -лимфоциты (NK-клетки), % CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ (NK-cells) from LYM, %	10,9	9,9–22,9
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ -лимфоциты (NK-клетки), × 10 ⁶ /мл CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ (NK-cells), × 10 ⁶ /ml	0,1	0,1–0,6

Примечание. Жирным шрифтом обозначены показатели, отличающиеся от нормы.

Note. Abnormal values are thrown up boldface italic type.

Таблица 2
Митогенный ответ с конканавалином А

Table 2
Lymphocyte proliferation with concanavalin A

Митоген Mitogen	Концен- трация, мкг/мл Concen- tration, mcg / ml	Мононуклеарные клетки Mononuclear cells						
		пациента patient's				донора donor's		
		включение метки (3H-тимидин) incorporation of radioactive thymidine (3H-thymidine)						
		M	SD	n	M	SD	n	
Конканавалин A Concanavalin A	0	134	7	3	188	39	3	
	2,5	527	135	3	1034	451	3	
	5	820	118	3	2671	1110	3	
	10	2713	1190	3	8173	2426	3	

Примечание. М – среднее значение; SD – стандартное отклонение; n – количество измерений.

Note. M – mean value; SD – standard deviation; n – number.

Зафиксированы признаки комбинированного первичного иммунодефицита: выявлено снижение всех классов Ig: IgA < 0,26 г/л, IgM < 0,18 г/л, IgG 3,65 г/л за счет IgG1 3,13 г/л с умеренным дефицитом В-клеток: CD19⁺ 0,12 тыс/мкл со снижением всех представленных субпопуляций, равномерная Т-клеточная лимфопения: CD4⁺ 0,37 тыс/мкл, CD8⁺ 0,32 тыс/мкл (таблица 1), определение продуктов перестройки генов Т-клеточного рецептора (TREC) и Ig (KREC) показало нормальные значения. Также наблюдалось снижение митогенного ответа с конканавалином А по сравнению с мононуклеарами здорового донора (таблица 2).

В связи с клиническими проявлениями колита выполнены эндоскопические исследования – фиброэзофагогастродуоденоскопия, фиброколоноскопия, выявлены признаки воспаления без эрозивно-язвенных процессов: терминальный атрофический илеит, диффузный колит, лимфофолликулярная гиперплазия слизистой оболочки, неатрофический бульбит, дуоденит. По результатам гистологического исследования: хронический неактивный дуоденит, хронический умеренно выраженный слабоактивный панколит. Значимого бактериального агента при посеве из кала не выявлено: отрицательные токсины А и В *Cl. difficile*, а также PCR к шигеллам, сальмонеллам, кампилобактеру и аденовирусу.

Ребенку инициирована регулярная заместительная терапия ВВИГ в дозе 0,5 г/кг массы тела, профилактическая антибактериальная терапия (сульфаметоксазол + триметоприм), а также противопалительная терапия месалазином в дозе 44 мг/кг по поводу колита. Эффективность лечения планируется оценить в динамике.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синдромальные проявления в виде лицевого дисморфизма, врожденных пороков развития, включая ДМЖП, когнитивные нарушения, эпилепсия, тромбоцитопения характерны для пациентов с СЯ. Участвовавшие с возрастом рецидивирующие инфекции верхних дыхательных путей, гипогаммаглобулинемия, умеренные В- и Т-клеточные лимфопении, нарушение митогенного ответа, проявления иммунной дисрегуляции в виде артралгий, витилиго, геморрагического колита являются признаками комбинированного иммунодефицита.

Описанный случай подтверждает наличие у пациентов с СЯ не только дефицита гуморального звена иммунной системы, но и проявления иммунной дисрегуляции. В связи с этим внимание клиницистов при ведении таких пациентов должно быть направлено на выявление не только инфекционной патологии как признака иммунодефицита, но и нарушений функций

различных органов и систем. Вероятно, описанные ранее проявления патологии желудочно-кишечного тракта, эндокринной системы у пациентов с СЯ могут быть признаками комбинированного иммунодефицита. В связи с этим пациентам с СЯ показана не только заместительная терапия ВВИГ и профилактическая антибактериальная терапия, а также лечение, направленное на коррекцию аутоиммунных осложнений.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Kuzmenko N.B. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1669-8621>

Shvets O.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5347-7150>

Mukhina A.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3305-1694>

МНЕНИЕ ЭКСПЕРТА

А.Ю. Щербина, профессор, заведующая отделением иммунологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Пациенты с синдромальными заболеваниями часто страдают от рецидивирующих респираторных инфекций, что нередко является основной причиной заболеваемости и смертности. Зачастую причиной таких инфекций считают морфологические изменения верхних дыхательных путей, лицевого скелета, нарушение мышечной иннервации, вследствие которых могут происходить частые аспирации пищи и слюны. Таким образом, рецидивирующие инфекции не расцениваются как проявления иммунодефицита, и пациентам не назначаются соответствующие обследования и специфическая терапия, в том числе профилактирующая инфекционные эпизоды. Как в ситуации с описанной пациенткой, большинству больных с СЯ показано использование ВВИГ с заместительной целью, в некоторых случаях – назначение профилактической антибактериальной терапии и лечение аутоиммунных осложнений иммунодефицита.

Несмотря на то, что при синдромальной патологии на первый план могут выходить другие проблемы, например необходимость хирургической коррекции пороков различных органов, реабилитация в связи с нарушением психического и физического развития, важно не пропустить проявления иммунодефицита при СЯ, как и при другой синдромальной патологии. В связи с этим следует внимательно подходить к поиску генетических дефектов и выбору молекулярно-генетических

методов обследования. Для «синдромальных» пациентов часто таким методом является ХМА.

Необходимо отметить ХМА как один из критически важных методов генетической диагностики редких форм первичных иммунодефицитов в совокупности с таргетными методами выявления делеций, таких как FISH, методами молекулярно-генетической диагностики, включая NGS.

При анализе региона 11q24–25 длинного плеча 11-й хромосомы у родителей пациентки возможно будет говорить о происхождении микроделеции у девочки *de novo* либо в результате получения несбалансированной транслокации от одного из родителей. Однако при планировании беременности в этой семье необходимо проведение пренатальной или преимплантационной диагностики.

Размер делеции, выявляемый у пациентов с СЯ, может варьировать, как упоминалось ранее [1–3, 9], однако у большинства одни и те же гены оказываются удаленными, что, вероятно, обуславливает схожесть фенотипических проявлений. У пациентки, описанной в данной статье, размер делеции небольшой и составляет 7,8 Мб, однако захватывает принципиальные для развития СЯ гены. Среди 54 удаленных генов 5, описанных ранее [2, 13], имеют отношение к регуляции развития клеток иммунной системы – *ETS1*, *FLI1*, *NFRKB*, *THYN1* и *SNX19*.

В литературе описан пример взрослой пациентки с СЯ с подобным размером и локализацией делеции 11-й хромосомы, различными дисморфизмами развития, гипогаммаглобулинемией и поздним стартом инфекционных проблем [13]. У пациентки, описанной в данной статье, инфекционные эпизоды случились после 10 лет. Первые проявления дисрегуляции отмечались уже с 6-летнего возраста, однако не были расценены как признаки иммунодефицита у синдромального пациента. Вероятно, у пациентов с СЯ фенотипически иммунодефицит может проявлять себя как в детском возрасте, так и быть отсроченным. В связи с этим иммунологическое обследование показано всем пациентам с СЯ.

Кроме того, важно проанализировать функцию иммунной системы в большой когорте пациентов с СЯ для выявления выраженности клинических проявлений в зависимости от локализации и протяженности делеции длинного плеча 11-й хромосомы. Также возможно сопоставление хромосомного генетического дефекта и клинической картины СЯ и других синдромальных пациентов с делециями 11-й хромосомы для выявления у них иммунодефицитного состояния. Дальнейшее изучение функции каждого гена в микроделеции, сопоставление результатов ХМА пациентов с различной синдромальной патологией поможет описанию функции конкретных генов, влияющих на тот или иной фенотипический признак.

Литература

- Mattina T., Perrotta C.S., Grossfeld P. Jacobsen syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2009; 4: 9. DOI: 10.1186/1750-1172-4-9
- Favier R., Akshoomoff N., Mattson S., Grossfeld P. Jacobsen syndrome: advances in our knowledge of phenotype and genotype. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2015; 169 (3): 239–50. DOI: 10.1002/ajmg.c.31448
- Bernaciak J., Szczaluba K., Derwinska K., Wiśniowiecka-Kowalik B., Bocian E., Sasiadek M.M., et al. Clinical and molecular-cytogenetic evaluation of a family with partial Jacobsen syndrome without thrombocytopenia caused by an approximately 5 Mb deletion del(11)(q24.3). *Am J Med Genet A* 2008; 146A (19): 2449–54. DOI: 10.1002/ajmg.a.32490
- Jacobsen syndrome. Genetics Home Reference (GHR): [Электронный ресурс]. 2009. URL: <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/jacobsen-syndrome>. (Дата обращения 28.07.2020).
- Kang S.H., Shaw C., Ou Z., Eng P.A., Cooper M.L., Pursley A.N., et al. Insertional translocation detected using FISH confirmation of array-comparative genomic hybridization (aCGH) results. *Am J Med Genet A* 2010; 152A: 1111–26. DOI: 10.1002/ajmg.a.33278
- Ellison J.W., Ravn J.B., Rosenfeld J.A., Morton S.A., Neill N.J., Williams M.S., et al. Clinical utility of chromosomal microarray analysis. *Pediatrics* 2012; 130: e1085–95. DOI: 10.1542/peds.2012-0568
- Hill A.S., Foot N.J., Chaplin T.L., Young B.D. The most frequent constitutional translocation in humans, the t(11;22)(q23;q11) is due to a highly specific alu-mediated recombination. *Hum Mol Genet* 2000; 9 (10): 1525–32. DOI: 10.1093/hmg/9.10.1525
- Jones C., Mullenbach R., Grossfeld P., Auer R., Favier R., Chien K., et al. Co-localisation of CCG repeats and chromosome deletion breakpoints in Jacobsen syndrome: Evidence for a common mechanism of chromosome breakage. *Hum Mol Genet* 2000; 9 (8): 1201–8. DOI: 10.1093/hmg/9.8.1201
- Takahashi I., Takahashi T., Sawada K., Shimojima K., Yamamoto T. Jacobsen syndrome due to an unbalanced translocation between 11q23 and 22q11.2 identified at age 40 years. *Am J Med Genet A* 2012; 158A (1): 220–3. DOI: 10.1002/ajmg.a.34382
- Blazina S., Lovrečić L., Hovnik T. 11q terminal deletion and combined immunodeficiency (Jacobsen syndrome): Case report and literature review on immunodeficiency in Jacobsen syndrome. *Am J Med Genet A* 2016; 170 (12): 3237–40. DOI: 10.1002/ajmg.a.37859
- Gao Z., Kim G.H., Mackinnon A.C., Flagg A.E., Bassett B., Earley J.U., Svensson E.C. Ets1 is required for proper migration and differentiation of the cardiac neural crest. *Development* 2010; 137 (9): 1543–51. DOI: 10.1242/dev.047696
- Garrett-Sinha L.A. Review of Ets1 structure, function, and roles in immunity. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70 (18): 3375–90. DOI: 10.1007/s00018-012-1243-7
- Seppänen M., Koillinen H., Mustjoki S., Tomi M., Sullivan K.E. Terminal Deletion of 11q with Significant Late-Onset Combined Immune Deficiency. *J Clin Immunol* 2014; 34 (1): 114–8. DOI: 10.1007/s10875-013-9966-2
- Hart A., Melet F., Grossfeld P., Chien K., Jones C., Tunnacliffe A., et al. Fli-1 is required for murine vascular and megakaryocytic development and is homozygously deleted in patients with thrombocytopenia. *Immunity* 2000; 13 (2): 167–77. DOI: 10.1016/S1074-7613(00)00017-0
- Ye M., Coldren C., Benson W., Goldmuntz E., Ostrowski M., Watson D., et al. Deletion of ETS-1, a gene in the Jacobsen syndrome critical region, causes ventricular septal defects and abnormal ventricular morphology in mice. *Hum Mol Genet* 2010; 19 (4): 648–56. DOI: 10.1093/hmg/ddp532
- Grossfeld P.D., Mattina T., Lai Z., Favier R., Jones K.L., Cotter F., Jones C. The 11q terminal deletion disorder: a prospective study of 110 cases. *Am J Med Genet A* 2004; 129A (1): 51–61. DOI: 10.1002/ajmg.a.30090
- Sakkou M., Wiedmer P., Anlag K., Hamm A., Seuntjens E., Ettwiller L., et al. A role for brain-specific homeobox factor Bsx in the control of hyperphagia and locomotory behavior. *Cell Metab* 2007; 5 (6): 450–63. DOI: 10.1016/j.cmet.2007.05.007
- Pak J.H., Huang F.L., Li J., Balschun D., Reymann K.G., Chiang C., et al. Involvement of neurogranin in the modulation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, synaptic plasticity, and spatial learning: A study with knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97 (21): 11232–7. DOI: 10.1073/pnas.210184697
- Nasu-Nishimura Y., Hayashi T., Ohishi T., Okabe T., Ohwada S., Hasegawa Y., et al. Role of the Rho GTPase-activating protein RICS in neurite outgrowth. *Genes Cells* 2006; 11 (6): 607–14. DOI: 10.1111/j.1365-2443.2006.00966.x
- Penny L.A., Dell'Aquila M., Jones M.C., Bergoffen J., Cunliffe C., Fryns J.P., et al. Clinical and molecular characterization of patients with distal 11q deletions. *Am J Hum Genet* 1995; 56 (3): 676–83.
- Krishnamurti L., Neglia J.P., Nagarajan R., Berry S.A., Lohr J., Hirsch B., White J.G. Paris-Trousseau syndrome platelets in a child with Jacobsen's syndrome. *Am J Med Haematol* 2001; 66 (4): 295–99. DOI: 10.1002/ajh.1061
- Tangye S.G., Al-Herz W., Bousfiha A., Chatila T., Cunningham-Rundles C., Etzioni A., et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2020; 40 (1): 24–64. DOI: 10.1007/s10875-019-00737-x
- Sirvent N., Monpoux F., Pedetour F., Fraye M., Philip P., Ticchioni M., et al. Jacobsen syndrome, thrombopenia, and humoral immunodeficiency. *Arch Pediatr* 1998; 5 (12): 1338–40. DOI: 10.1016/S0929-693X(99)80052-9
- Dalm V.A., Driessen G.J., Barendregt B.H., van Hagen P.M., van der Burg M. The 11q Terminal Deletion Disorder Jacobsen Syndrome is a Syndromic Primary Immunodeficiency. *J Clin Immunol* 2015; 35 (8): 761–8. DOI: 10.1007/s10875-015-0211-z
- Fernandez-San Jose C., Martin-Nalda A., Vendrell Bayona T., Soler-Palacin P. Hypogammaglobulinemia in a 12-year-old patient with Jacobsen syndrome. *J Paediatr Child Health* 2011; 47 (7): 485–6. DOI: 10.1111/j.1440-1754.2011.02136.x
- Puglisi G., Netravali M.A., MacGinnitie A.J., Bonagura V.R. 11q terminal deletion disorder and common variable immunodeficiency. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2009; 103 (3): 267–8. DOI: 10.1016/S1081-1206(10)60192-5
- Verbsky J.W., Baker M.W., Grossman W.J., Hintermeyer M., Dasu T., Bonacci B., et al. Newborn screening for severe combined immunodeficiency: the Wisconsin experience (2008–2011). *J Clin Immunol* 2012; 32 (1): 82–8. DOI: 10.1007/s10875-011-9609-4
- von Bubnoff D., Kreiss-Nachtsheim M., Novak N., Engels E., Engels H., Behrend C., et al. Primary immunodeficiency in combination with transverse upper limb defect and anal atresia in a 34-year-old patient with Jacobsen syndrome. *Am J Med Genet A* 2004; 126A (3): 293–8. DOI: 10.1002/ajmg.a.20592
- So J., Stockley T., Stavropoulos D.J. Periventricular nodular heterotopia and transverse limb reduction defect in a woman with interstitial 11q24 deletion in the Jacobsen syndrome region. *Am J Med Genet A* 2014; 164A (2): 511–5. DOI: 10.1002/ajmg.a.36292

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-121-130

Дефицит пируваткиназы и несфероцитарная гемолитическая анемия

Е.А. Бовт^{1,2}, Л.Д. Колева^{1,2}, Е.А. Черняк¹, Д.С. Прудинник¹, Ф.И. Атауллаханов¹⁻⁴,
Н.С. Сметанина¹, Е. И. Синауридзе^{1,2}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

²ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН, Москва

³ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва

⁴ФГАУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Московская область, Долгопрудный

Обзор посвящен одному из основных регуляторных ферментов гликолиза в эритроцитах – пируваткиназе, дефицит которого часто является причиной наследственной несфероцитарной гемолитической анемии. Рассмотрены строение и функция пируваткиназы, известные на сегодняшний день мутации гена этого фермента. Авторы провели анализ связи генетических аномалий с нарушением функции фермента и тяжестью клинических проявлений.

Ключевые слова: гемолиз, гликолиз, дефицит фермента, наследственная несфероцитарная анемия, пируваткиназа, эритроцит

Бовт Е.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 121–130.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-121-130

Pyruvate kinase deficiency and nonspherocytic hemolytic anemia

E.A. Bovt^{1,2}, L.D. Koleva^{1,2}, E.A. Chernyak¹, D.S. Prudinnik¹, F.I. Ataulakhov¹⁻⁴, N.S. Smetanina¹, E.I. Sinauridze^{1,2}

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

²Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow

³M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow

⁴Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Moscow Region, Dolgoprudny

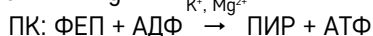
The review is devoted to one of the main regulatory enzymes of glycolysis in erythrocytes – pyruvate kinase, a deficiency of which is often the cause of hereditary nonspherocytic hemolytic anemia. The article presents data on the structure and function of pyruvate kinase and the currently known mutations of coding this enzyme gene. Authors analyzed associations between various genetic types and impaired enzyme function and the severity of the hemolysis.

Key words: enzyme deficiency, erythrocyte, hemolysis, glycolysis, hereditary nonspherocytic anemia, pyruvate kinase, erythrocyte

Bovt E.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 121–130.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-121-130

Фермент пируваткиназа

Пируваткиназа (ПК; аденозинтрифосфат (АТФ): пируват-2-о-фосфотрансфераза, ЕС 2.7.1.40) – один из основных ферментов гликолиза, который катализирует необратимое превращение фосфоенолпирувата (ФЕП) в пируват (ПИР) с фосфорилированием аденозиндифосфата (АДФ) в АТФ в присутствии ионов K⁺ и Mg²⁺:



Особенно важна эффективность гликолиза в эритроцитах, так как в них он является единственным источником АТФ, обеспечивающим нормальную работу мембранных насосов, а следовательно, сохра-

нение формы, необходимой для функциональной эффективности и выживаемости этих клеток в организме. ПК – один из основных регуляторных ферментов гликолитического пути наряду с гексокиназой и фосфофруктокиназой. Это второй из этапов в гликолизе (рисунк 1), где происходит синтез 50% общего количества АТФ, образующегося в эритроцитах [1].

При сильной недостаточности (дефиците) ПК наблюдается уменьшение эффективности гликолиза, которое приводит к накоплению его промежуточных продуктов и нехватке АТФ, что снижает жизнеспособность эритроцита [2].

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 02.12.2019

Принята к печати 28.02.2020

Контактная информация:

Бовт Елизавета Андреевна, лаборант-исследователь лаборатории биофизики ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, аспирантка лаборатории физиологии и биофизики клетки ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: ie.bovt.rv@gmail.com

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 02.12.2019

Accepted 28.02.2020

Correspondence:

Elizaveta A. Bovt, Junior Researcher of the Laboratory of Biophysics, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation; post-graduate student of the Laboratory of Physiology and Biophysics of the Cell, Center of Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences
Address: Russia, 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
E-mail: ie.bovt.rv@gmail.com

У людей существует 2 отдельных гена (*PKLR* и *PKM*), которые кодируют 4 изоформы ПК: PKR, PKL, PKM₁ и PKM₂ (рисунки 2). Гены *PKLR* и *PKM* расположены на хромосомах 1q21 и 15q22 соответственно. Ген *PKLR* кодирует изоформу ПК в эритроцитах (PKR), а также изоформу фермента PKL, которая экспрессируется преимущественно в печени и реже в почках и кишечнике [3]. *PKLR* состоит из 12 экзонов и охватывает 9,5 кб. Экзон 1 специфичен для эритроидной линии, тогда как экзон 2 – для печени [4, 5]. Экспрессия изоформы PKL или PKR в отдельных типах тканей осуществляется тканеспецифичными факторами транскрипции, которые активируются 2 альтернативными промоторами, расположенными в гене *PKLR*. Транскрипт полноразмерной PKR обладает дополнительным экзоном на своем 5'-терминальном конце, кодируя полипептидную цепь из 574 аминокислот. Форма PKL более короткая и состоит из 543 аминокислот (58,4 кДа) [7].

Целый ряд мутаций в гене *PKLR* приводит к дефициту ПК, который может вызывать гемолитическую анемию, связанную либо с понижением экспрессии эритроцитарной изоформы фермента (PKR), либо с нарушением его биохимической функции [8].

Дефицит эритроцитарной ПК, впервые выявленный в начале 1960-х годов [9], является наиболее частым ферментативным нарушением гликолитического пути, вызывающим наследственную несфероцитарную гемолитическую анемию [10]. В общей популяции белого населения заболевание встречается с частотой 1 на 20 000.

В базофильных эритроблестах экспрессируются как PKR-, так и PKM₂-изоформы ПК. Во время дальнейшей дифференцировки и созревания клеток происходит переключение экспрессии изоферментов, в результате чего повышается экспрессия PKR, постепенно заменяющая экспрессию PKM₂ [11]. ПК эритроцитов человека имеет 2 различные изоформы: PKR₁ и PKR₂. PKR₁ преобладает в ретикулоцитах и молодых эритроцитах, тогда как в зрелых эритроцитах в основном находится PKR₂ [12]. PKR₁ является гомотетрамером, состоящим из 4 L'-субъединиц (L'₄). Ограниченная протеолитическая деградация *in vivo* превращает гомотетрамер в гетеротетрамер PKR₂ (L'₂L₂) [13]. Ферментативная активность ПК уменьшается с увеличением возраста эритроцитов.

Ферменты PKM₁ и PKM₂ экспрессируются геном *PKM* (экзон 9 для PKM₁ и экзон 10 для PKM₂) путем альтернативного сплайсинга одной и той же матричной РНК и отличаются только 23 аминокислотами из 531 [14]. Эти 23 аминокислоты, отличающие PKM₁ и PKM₂, сконцентрированы на участке из 56 аминокислот (остатки 378–434) на карбокси-конце белка PKM₂. Из 56 аминокислот 44 принадлежат

C-домену белка PKM₂, который в основном участвует в ассоциации 2 димеров в тетрамерную форму [15]. PKM₁ преобладает в скелетных мышцах, сердце и мозге, а PKM₂ в основном экспрессируется в ранних эмбриональных и пролиферирующих тканях. В ходе развития PKM₂ постепенно заменяется другими тканеспецифичными изоформами (PKM₁, PKR и PKL) [16].

Структура и кинетические свойства пируваткиназы

Сведения о структуре ПК были собраны при исследовании кристаллических структур фермента разных биологических видов (*Leishmania mexicana* [17], *Escherichia coli* I типа [18], дрожжи [16], эритроциты человека [19], мышцы кошки [20] и кролика [21]). Было показано, что структура ПК у разных видов является довольно консервативной. Первичная последовательность изоформы эритроцитов человека в высокой степени гомологична PKM₁-изоформе мышц кошки и ферменту *Escherichia coli* I типа [2, 18, 20].

ПК представляет собой тетрамер с молекулярной массой 240 кДа и 4 одинаковыми субъединицами, каждая из которых состоит из 4 доменов (рисунки 3): небольшого N-концевого спирального домена (остатки 1–84), который отсутствует в бактериальных ПК; домена А (остатки 85–159 и 263–431) с топологией (α/β)₈-бочонка; домена В (остатки 160–262), который вставлен между цепочкой β₃ и спиралью α₃; и домена С (остатки 432–574) с топологией α + β. Домен А является наиболее консервативным, в то время как домены В и С более вариабельны [22].

Эритроцитарная ПК является аллостерически регулируемым ферментом. Активный центр фермента находится между доменами А и В, а аллостерический сайт расположен в кармане домена С в 40 Å от активного центра [23]. Домен В способен вращаться отдельно от домена А, создавая «открытую» или «закрытую» конформацию. Домен С содержит сайт связывания для аллостерического регулятора – фруктозо-1,6-дифосфата [24]. В результате многодоменного строения ПК может существовать в различных конформационных состояниях, что способствует регуляции активности фермента [25].

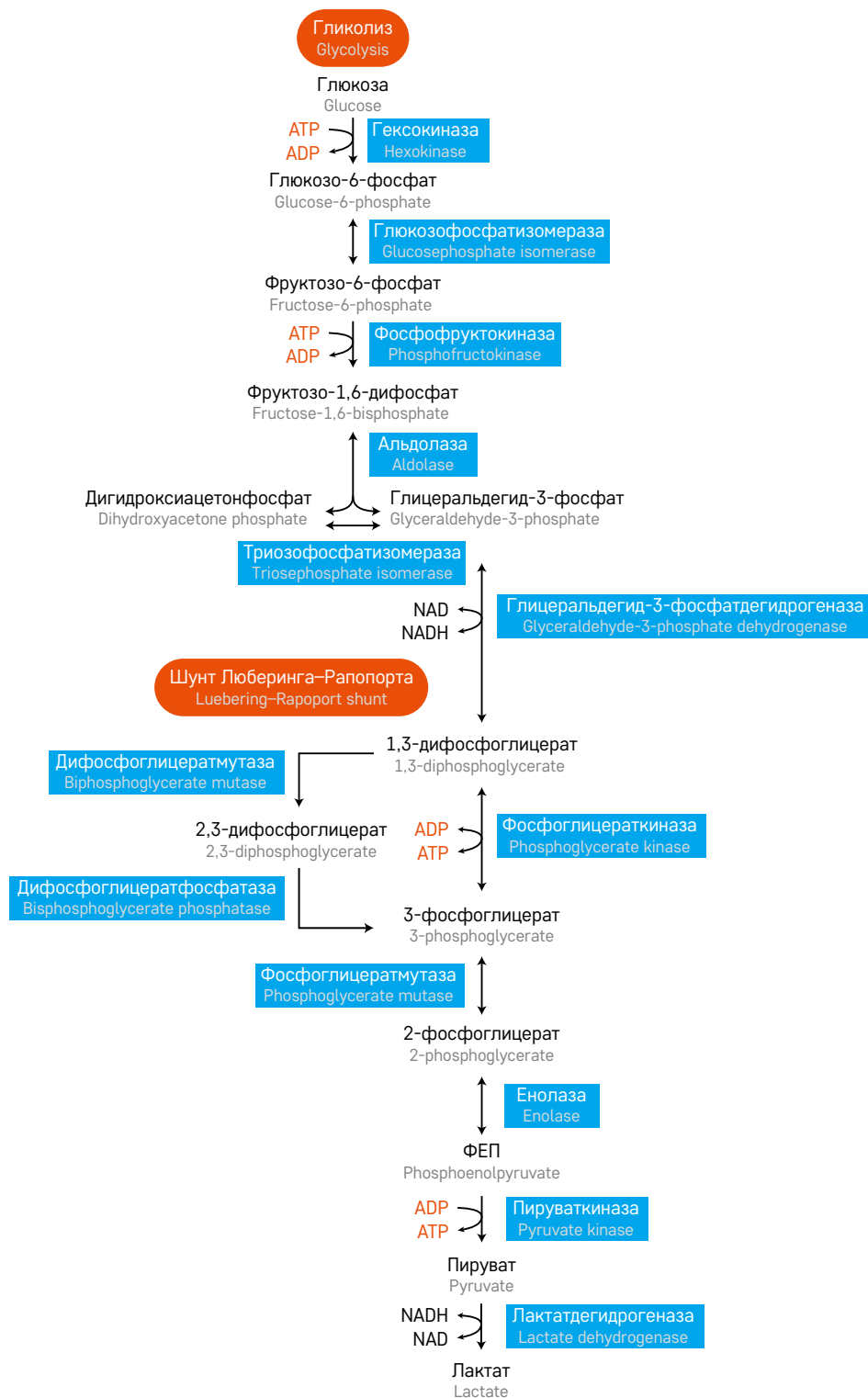
PKR может находиться в 2 конформациях: неактивном T- (tensive, напряженное) и активном R- (resting, расслабленное) состоянии [26–28]. Некоторые детали механизма аллостерической регуляции были выяснены путем сравнения неактивного T-состояния ПК *Escherichia coli* (рисунки 4А) с неаллостерическим мышечным ферментом PKM₁ в активной R-конформации (рисунки 4Б) [18]. При изменении конформации наблюдается комбинация 2 видов движений: вращение доменов В и С (на 17°

Рисунок 1

Схема реакций гликолиза в эритроците человека. Адаптировано из [6]

Figure 1

Glycolysis in human erythrocyte. Adapted from [6]



и 15° соответственно) внутри каждой субъединицы и вращение на 16° каждой субъединицы внутри тетрамера (рисунки 4В) [29]. Исследование показало, что аллостерический переход из низкоаффинного Т-состояния в высокоаффинное R-состояние включает взаимодействия субъединиц А/А' и С/С' и междоменные взаимодействия А/В. Это приводит к изме-

нению конформации фермента и его активного центра, что изменяет сродство фермента к ФЕП [29, 30]. Такое взаимодействие считается ключевым фактором аллостерического ответа.

Для обеспечения специфических метаболических потребностей различных типов клеток каждый изофермент проявляет различные кинетические и

Рисунок 2

Изоформы ПК и их распределение в тканях. Адаптировано из [7]

Figure 2

Pyruvate kinase isoforms and tissue distribution. Adapted from [7]

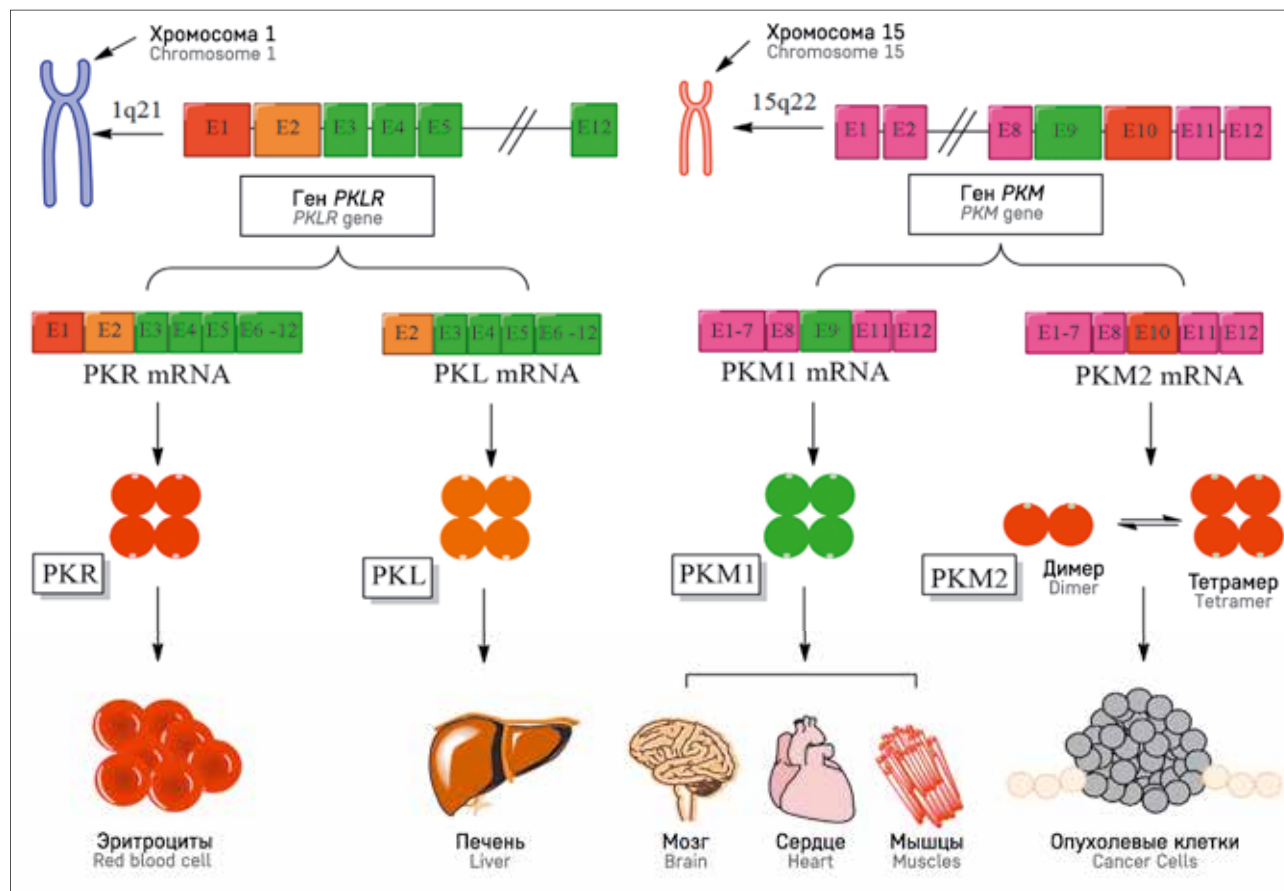
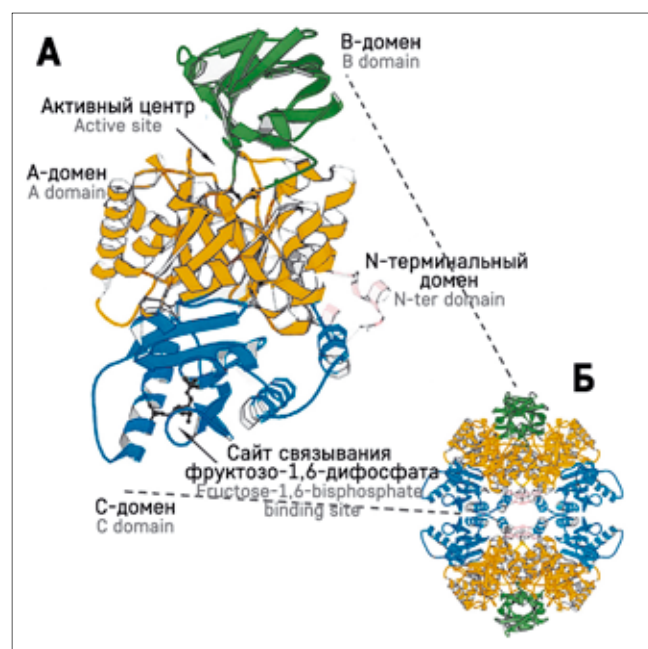


Рисунок 3

Трехмерная кристаллическая структура мономера (А) и тетрамера (Б) эритроцитарной ПК. Адаптировано из [26]

Figure 3

Three-dimensional crystal structure of erythrocyte pyruvate kinase monomer (A) and tetramer (B). Adapted from [26]



регуляторные свойства [11]. В качестве примера в таблице 1 представлены биохимические свойства и молекулярные характеристики изоферментов человеческой ПК [19, 31].

PKM₁ не имеет механизма аллостерической активации и обладает большим сродством к ФЕП, а также имеет гиперболическую кинетику, соответствующую уравнению Михаэлиса–Ментен. Изоферменты PKM₂, PKL и PKR имеют меньшее сродство к ФЕП. Они аллостерически активируются фруктозо-1,6-дифосфатом и ингибируются АТФ и аланином [13, 32]. Аффинность PKM₂ к ФЕП варьирует в зависимости от четвертичной структуры фермента (димер или тетрамер). Исследование кинетических характеристик 2 олигомерных форм PKM₂ показало, что тетрамер PKM₂ обладает высоким сродством к своему субстрату (ФЕП) и является ферментативно активным, тогда как димерная форма PKM₂ имеет очень слабое сродство к ФЕП и не обладает ферментативной активностью в физиологических условиях [33].

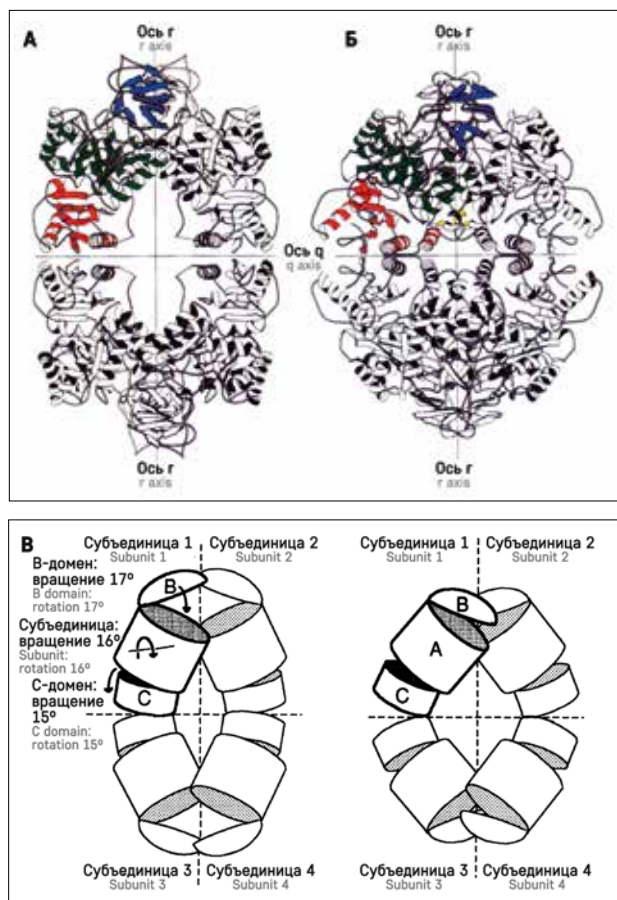
Фруктозо-1,6-дифосфат, который является аллостерическим активатором ПК, может сильно изменять сродство фермента к его субстрату ФЕП. Если сравнить кинетические параметры активной ПК

Рисунок 4

Структура ПК в различных состояниях: А – тетрамерная ПК из *Escherichia coli* в неактивном Т-состоянии; Б – структура РКМ₁ кролика в активном R-состоянии; В – схематическое представление вращения доменов и субъединиц, происходящего при переходе ПК из Т- в R-состояние; Т-состояние представлено слева [18, 29]

Figure 4

Structure of pyruvate kinase in different states: А – tetrameric *E. coli* pyruvate kinase in the inactive T-state; Б – structure of the rabbit PKM₁ in the active R-state; В – schematic representation of the domain and subunit rotations occurring on the T- to R-state PK transition. The T-state structure is on the left [18, 29]



Leishmania mexicana в R-конформации [34] с неактивной ПК *Escherichia coli* в Т-состоянии [35], то константа Михаэлиса (K_m) для ФЕП в R-состоянии ПК *Leishmania mexicana* составляет 1,44 мМ, а с фруктозо-1,6-дифосфатом – 0,84 мМ, тогда как K_m для ФЕП неактивной Т-формы ПК *Escherichia coli* равна 5,12 мМ, а при активации фруктозо-1,6-дифосфата – 0,087 мМ.

Дефицит пируваткиназы

Первый случай дефицита ПК был зарегистрирован в 1961 г. [9]. В 1991 г. были описаны первые 2 точечные мутации, вызывающие дефицит ПК [36, 37]. Благодаря клонированию комплементарной ДНК человека стало возможным анализировать мутации ПК непосредственно на уровне ДНК [38]. С тех пор

Таблица 1

Характеристика изоферментов ПК человека*

Table 1

Properties of human pyruvate kinase isoforms*

Свойство Property	Изоферменты ПК Pyruvate kinase isoforms			
	PKR	PKL	PKM ₁	PKM ₂
Молекулярная масса, кДа Molecular weight, kDa	61,8	58,4	58	58
Количество аминокислот Number of aminoacids	574	543	531	531
$S_{0,5}$ или K_m для ФЕП, мМ $S_{0,5}$ or K_m for phosphoenolpyruvate, mM	1,1 ($S_{0,5}$)	0,1–0,8 ($S_{0,5}$)	0,05 (K_m)	1,7 ($S_{0,5}$)
$S_{0,5}$ или K_m для АДФ, мМ $S_{0,5}$ or K_m for adenosine diphosphate, mM	0,17 ($S_{0,5}$)	0,18 ($S_{0,5}$)	Нет данных No data	Нет данных No data
$S_{0,5}$ или K_m для фруктозо-1,6-дифосфата, мМ $S_{0,5}$ or K_m for fructose-1,6-bisphosphate, mM	0,18 ($S_{0,5}$)	0,1 ($S_{0,5}$)	0,05 (K_m)	0,55 ($S_{0,5}$)
Ген Gene	PKLR		PKM	

Примечание. * – для реакций, подчиняющихся уравнению Михаэлиса–Ментен, представлены величины K_m , а для аллостерических реакций, описываемых кривыми сигмоидальной формы, приведены величины $S_{0,5}$, не являющиеся K_m в обычном смысле. Обе величины характеризуют концентрацию субстрата, при которой достигается полумаксимальная скорость реакции.
Note. * – Michaelis constant (K_m) and $S_{0,5}$ are presented for enzymes with Michaelis–Menten mechanism and enzymes with allosteric regulation respectively.

было исследовано множество пациентов с дефицитом ПК и в литературе описано более 256 мутаций [39], которые влияют на каталитическую активность PKR, ее стабильность [40] или экспрессию белка [2]. Чаще всего сообщается о миссенс-мутациях – точечных мутациях, при которых одна-единственная аминокислота заменяется другой (70% общего числа мутаций), сплайсинговых мутациях, при которых изменяются сайты сплайсинга в интронных областях гена, что приводит либо к делеции смежного с мутацией экзона, либо, наоборот, к тому, что соответствующий интрон в ходе процессинга первичного РНК-транскрипта остается невырезанным (13%), и нонсенс-мутациях, т.е. точечных мутациях в последовательности ДНК, приводящих к возникновению стоп-кодона, который препятствует дальнейшему синтезу белка (15%). Другие виды мутаций, такие как небольшие делеции, вставки и мутации сдвига рамки считывания являются редкими [41–43]. Наиболее распространенными миссенс-мутациями являются: 1529G>A в США и Европе, 1456C>T в Южной Европе и 1468C>T в Азии. Другие мутации, в частности 721G>T и 994G>A, присутствуют у европейцев с меньшей частотой [26, 44]. В отдельных сообществах отмечена более высокая распространенность заболевания, связанная с мутацией 1436G>A (особенно в сообществе амишей в Пенсильвании) [45] и с делецией 1149bp, приводящей к потере экзона 11 (в сообществах цыган) [46].

Врожденная гемолитическая анемия, связанная с дефицитом PKR, передается как аутосомно-рецессивный признак, и клинические симптомы обычно возникают только у гомозиготных и сложных гетерозиготных пациентов с 2 различными мутантными аллелями [47]. Степень тяжести анемии сильно

варьирует: от очень легких или полностью компенсированных форм до угрожающей жизни неонатальной анемии, требующей переливания эритроцитов, и даже до внутриутробной смерти или смерти через несколько дней после рождения. Известно, что у некоторых пациентов может наблюдаться нормальная или даже повышенная активность ПК, что может быть связано с контаминацией нормальными донорскими эритроцитами после недавнего переливания, повышенным содержанием ретикулоцитов, в которых активность фермента выше, неполным удалением лейкоцитов или вкладом компенсаторной изоформы PKM₂ в молодых эритроцитах [48]. На данный момент не существует полностью стандартизированной методики измерения активности эритроцитарной ПК. Измеряемая активность может зависеть как от использованных реактивов, так и от применяемых для исследования приборов. Вследствие этого значения нормальных величин активности ПК, измеряемой в эритроцитах доноров, достаточно сильно варьируют в различных лабораториях, поэтому каждая клиника обычно самостоятельно определяет величины нормальных значений активности этого фермента. В целом нормальное значение составляет от 6,7 до 15 Ед/гНб [2, 43, 49–55].

При исследовании активности ПК у пациентов с ее дефицитом установлено, что нет прямой зависимости тяжести анемии и степени гемолиза от

активности ПК [27]. У одной части пациентов незначительное снижение активности ПК приводит к тяжелой врожденной гемолитической анемии, тогда как у других (с сильно сниженной активностью фермента) наблюдается лишь легкая степень анемии [26]. Таким образом, возникает вопрос: является ли наблюдаемый дефицит ПК первичной причиной анемии? Чтобы разобраться, что же является причиной гемолиза при дефиците ПК, необходимо исследовать, какие изменения происходят в эритроците помимо снижения активности ПК и как степень гемолиза зависит от стабильности фермента.

Связь между молекулярным дефектом пируваткиназы и тяжестью заболевания

В разных работах были исследованы рекомбинантные формы ПК с самыми распространенными мутациями. Эти исследования позволяют установить связь между клиническими симптомами у пациентов с дефицитом ПК и молекулярными свойствами мутантных ферментов. Характеристика мутантных белков показывает, что аминокислотные замены в домене А или С влияют, хотя и в разной степени, на стабильность (мутации 994G>A, 1091G>A, 1529G>A и 1594C>T), каталитическую активность (мутации 994G>A, 1091G>A, 1151C>T, 1168G>A, 1456C>T) и регуляторные свойства (мутации 1529G>A и 1594C>T) ПК (таблица 2) [19, 24, 28]. Кроме того,

Таблица 2

Степень тяжести гемолитической анемии и изменение стабильности и кинетических параметров ПК для некоторых известных мутаций фермента [19, 24, 28]

Table 2

Severity of hemolytic anemia, enzyme stability and kinetic parameters of different pyruvate kinase forms [19, 24, 28]

Фермент Enzyme	Мутация Mutation	Стабильность фермента*, % Enzyme stability*, %	Степень тяжести анемии Severity of anemia	K _m для ФЭП, мМ K _m for phosphoenolpyruvate, mM	kcat, с ⁻¹ kcat, s ⁻¹	K _m для АДФ, мМ K _m for adenosine diphosphate, mM	После активации фруктозо-1,6-дифосфата (1 мМ) Activated by fructose-1,6-bisphosphate (1 mM)	
							K _m для ФЭП, мМ K _m for phosphoenolpyruvate, mM	kcat, с ⁻¹ kcat, s ⁻¹
Нативная PKR Wild-type	—	85		1,1	355	0,17	0,18	355
G332S	994G>A	20	Тяжелая Severe	3,79	137	0,49	0,38	152
G364D	1091G>A	0	Тяжелая Severe	0,93	104	0,16	0,75	118
T384M	1151C>T	70	Средняя Moderate	1,24	149	0,15	0,36	172
D390N	1168G>A	90	Тяжелая Severe	1,4	0,48	0,25	0,34	0,55
R479H	1436G>A	90	Тяжелая Severe	1,1	390	0,2	0,08	386
R486W	1456C>T	95	Легкая Mild	1,69	195	0,24	0,4	203
R532W	1594C>T	30	Тяжелая Severe	0,63	183	0,2	0,66	187
R510Q	1529G>A	5	Средне-тяжелая Severe/moderate	1,6	340	0,24	0,31	304

Примечание. * – остаточная активность фермента (%) после 30 мин инкубации при 53°C, pH 6,5.
Note. * – residual enzyme activity (%) after 30 minutes of incubation 53°C, pH 6,5.

иногда мутация приводит к пониженной экспрессии фермента.

Мутации домена А

Мутация 994G>A в гидрофобном ядре домена А влияет на остаток, который попадает в очень консервативную область активного центра. Фермент демонстрирует существенное снижение каталитической эффективности. Эта мутация приводит к нестабильности фермента и очень тяжелой гемолитической анемии [44, 56].

Мутация 1091G>A приводит к серьезной нестабильности белка, что объясняет тяжелую анемию у пациентов с этим дефицитом ПК. У мутантного фермента активность в 3 раза ниже, чем у нормального [19].

Мутация 1456C>T является одной из самых распространенных. Ее характеристика показывает, что такая замена аминокислоты приводит к небольшому влиянию на молекулярные свойства. Arg486, замещенный на Trp, находится на расстоянии 20 Å от каталитического центра [19]. Эффект «дальнего действия» мутации может отражать измененные динамические свойства. Известно, что домен В принимает разные конформации в зависимости от связывания лиганда. Введение ароматического кольца Trp может ограничивать общую способность фермента претерпевать конформационные изменения, происходящие во время катализа, нарушая тем самым кинетику реакции [57]. Стабильность такой ПК даже выше, чем у нормального белка, а аллостерические свойства практически не изменены (таблица 2). Единственное существенное изменение заключается в снижении каталитической эффективности, которая падает до 30% от значения, измеренного для нормальной ПК дикого типа [26].

Мутации, изменяющие междоменное взаимодействие субъединиц А/А'

Мутация 1168G>A не затрагивает стабильность фермента, однако приводит к практически полной его инактивации и тяжелой степени анемии. На основе сравнения структур ПК *Escherichia coli* в Т-состоянии и изоформы PKM₁ было установлено, что Asp390 является крайне важным для аллостерического перехода из-за сочетания изменений в четвертичной структуре с изменениями в геометрии активного центра [18, 19].

Мутация 1151C>T приводит к аминокислотной замене Thr384Met. Thr384 лежит очень близко к двойной оси А/А'. Основное отличие между мутантным (Thr384Met) и нативным белком заключается в 2-кратном снижении k_{cat} (таблица 2). Мутация не изменяет параметры термостабильности. Thr384 не является частью сайтов связывания для ФЕП и АДФ, а кристаллическая структура белка показывает,

что мутация не влияет на геометрию активного сайта [19]. Примечательно, что степень тяжести анемии у гомозигот с данной мутацией варьирует от легкой до тяжелой, подразумевая, что даже умеренные изменения каталитической силы фермента могут приводить к патологическим эффектам [2, 36, 37].

Мутации в аллостерическом центре

1594C>T, 1436G>A и 1529G>A представляют собой мутации в аллостерическом центре связывания. У пациентов с мутацией 1594C>T наблюдается тяжелая степень анемии [58]. Молекулярный анализ белка указывает на пониженную стабильность ПК и полную потерю чувствительности фермента к фруктозо-1,6-дифосфату (таблица 2) [19].

Мутация 1436G>A обнаружена у пациентов, страдающих тяжелой анемией [45]. Данная мутация практически не влияет на кинетику фермента и его стабильность, однако уровень транскрипции гена *PKLR* существенно снижен [59].

Мутация 1529G>A в гомозиготном состоянии приводит к очень низкой остаточной активности ПК (10–25% от нормы), связанной с тяжелой и умеренной гемолитической анемией [2]. Рекомбинантный мутантный белок демонстрирует по отношению к ФЕП и АДФ кинетическое поведение, очень похожее на поведение нативного фермента [28]. Мутация приводит к высокой нестабильности фермента и повышенной восприимчивости к ингибированию АТФ. Таким образом, дефицит ПК, связанный с мутацией 1529G>A, по-видимому, является главным образом результатом пониженного внутриклеточного уровня ПК.

Дальнейшие исследования характеристик мутантных форм PKR могут оказаться ценным инструментом для прогнозирования и корректировки терапии гемолитических анемий, связанных с дефицитом ПК.

Диагностика дефицита пируваткиназы

Диагноз дефицита ПК основывается на наличии клинических признаков и симптомов, лабораторных маркеров хронической гемолитической анемии, сниженной ферментативной активности ПК и обнаружении сложных гетерозиготных и гомозиготных мутаций в гене *PKLR* [60].

Симптомы дефицита пируваткиназы у новорожденных

Осложнения, связанные с дефицитом ПК, нередко наблюдаются у детей еще на стадии внутриутробного развития. Они могут включать задержку внутриутробного развития, отек плода и недоношенность [61]. У новорожденных часто наблюдается желтушность (60–90%), а раннее течение заболевания может осложняться тяжелой непрямой гипербилирубинемией.

мией и значительным гемолизом, требующим переливания крови. Однако не у всех новорожденных появляется желтуха, иногда наблюдается только легкая анемия. Редко при рождении может присутствовать геморрагическая сыпь по типу «черничного кекса», свидетельствующая об экстрамедуллярном (внекостномозговом) кроветворении главным образом в печени и селезенке.

Симптомы дефицита пируваткиназы у детей и взрослых

Наиболее частые симптомы дефицита ПК связаны с анемией (90–95% случаев; от легкой до требующей трансфузии), спленомегалией (80–85%; с различной степенью увеличения селезенки), желтухой (40–70%) и желчными камнями (30–45%). Менее распространенные проявления включают апластический криз (2–14%), деформации костей (9%), экстрамедуллярный эритропоэз (9%), отсроченное половое созревание (8%), гиперпигментацию (6%), язвы ног и легочную гипертензию (2–3%) [2, 27, 61, 62]. Гемолиз обычно усугубляется острыми инфекциями, стрессом и беременностью. У многих пациентов с дефицитом ПК наблюдается усталость и недостаток сил, связанные с анемией, что отрицательно сказывается на их повседневной жизни [63].

Морфология эритроцитов варьирует от нормы до проявления некоторой степени анизоцитоза (увеличение ширины распределения эритроцитов по размеру), пойкилоцитоза (изменение формы части эритроцитов) и полихромазии (появление в периферической крови полихроматофилов – молодых эритроцитов, одинаково хорошо окрашивающихся как кислыми, так и основными красителями, это может быть вызвано ускоренным выходом эритроцитов из костного мозга, связанным с их регенерацией). Иногда наблюдается различная доля эхиноцитов (5–20%), особенно после спленэктомии [27]. Концентрация гемоглобина у таких пациентов обычно низкая (колеблется от 65 до 110 г/л), но чаще всего после спленэктомии она повышается примерно на 15 г/л. Ретикулоциты обычно бывают повышены с 4 до 11% и значительно увеличиваются после спленэктомии (до 20–70%) [63]. Медиана непрямого гипербилирубинемии составляет около 60 мкмоль/л, а более высокие значения почти всегда подразумевают сосуществующий синдром Жильбера, сопровождающийся снижением захвата билирубина гепатоцитами. Уровень ферритина часто повышен. Около половины пациентов имеют уровень ферритина более 1000 мкг/л [61]. Перегрузка железом является распространенным осложнением дефицита ПК [60]. Для его терапии проводят хелатную терапию, заключающуюся во введении препаратов, связывающих и выводящих из организма ионы железа [26].

Терапия анемии, связанной с дефицитом пируваткиназы

Разнообразные экспериментальные методы лечения дефицита ПК находятся на стадии разработки и клинических испытаний, включая генную терапию [64, 65] и единственный существующий лекарственный препарат – аллостерический активатор ПК – AG-348 [66]. Тем не менее на сегодняшний день не существует хорошего терапевтического решения (за исключением трансплантации костного мозга), которое восстанавливало бы функцию ПК, снижало гемолиз эритроцитов и обеспечивало нормальный уровень гемоглобина и ретикулоцитов [67]. Нынешний стандарт лечения дефицита ПК, включающий переливание крови, спленэктомию, фототерапию (снижающую уровень билирубина в крови при облучении ее видимым светом, что приводит к образованию водорастворимых комплексов билирубина, которые могут выводиться, не откладываясь в печени) и хелатную терапию для устранения перегрузки железом, является поддерживающим [60].

Таким образом, разработка новых терапевтических стратегий для лечения состояния анемии, связанной с дефицитом ПК, является актуальной задачей медицинской науки. Для решения этой задачи необходимо в первую очередь понять, как различные дефекты ПК связаны со степенью гемолиза эритроцитов и тяжестью состояния анемии. Пока эта связь до конца неясна. Работы в этом направлении продолжают во всем мире, при этом основным должно быть установление связи между определенными видами генетических мутаций фермента и его активностью в клетке.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Фундаментальная и клиническая фармакология злокачественных новообразований и незлокачественных болезней крови и иммунной системы у детей» (ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России) и при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (государственное задание № АААА-А18-118012390247-0) (ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН), а также поддержана грантом Президиума РАН по программе фундаментальных исследований «Фундаментальные основы технологии физиологических адаптаций» и грантами ФГБУ «Российский фонд фундаментальных исследований» для аспирантов второго года № 19-34-90035 (для Колевой Л.Д.) и № 19-34-90036 (для Бовт Е.А.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Koleva L.D. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8803-5694>

Bovt E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4724-8647>

Cherniak E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3852-9634>

Prudinnik D.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5995-7702>

Ataullakhanov F.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3403-181X>

Smetanina N.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2756-7325>

Sinauridze E.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5948-3444>

Литература

- Valentine W.N. Hereditary hemolytic anemias associated with specific erythrocyte enzymopathies. *Calif Med* 1968; 108 (4): 280–94.
- Zanella A., Bianchi P. Red cell pyruvate kinase deficiency: From genetics to clinical manifestations. *Best Pract Res Clin Haematol* 2000; 13 (1): 57–81. DOI: 10.1053/beha.1999.0057
- Yamada K., Noguchi T. Nutrient and hormonal regulation of pyruvate kinase gene expression. *Biochem J* 1999; 337 (1): 1–11.
- Tani K., Fujii H., Nagata S., Miwa S. Human liver type pyruvate kinase: Complete amino acid sequence and the expression in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85 (6): 1792–5. DOI: 10.1073/pnas.85.6.1792
- Lenzner C., Nürnberg P., Jacobasch G., Thiele B.J. Complete genomic sequence of the human PK-L/R-gene includes four intragenic polymorphisms defining different haplotype backgrounds of normal and mutant PK-genes. *Mitochondrial DNA* 1997; 8 (1–2): 45–53. DOI: 10.3109/10425179709020884
- Van Wijk R., Van Solinge W.W. The energy-less red blood cell is lost: Erythrocyte enzyme abnormalities of glycolysis. *Blood* 2005; 106 (13): 4034–42. DOI: 10.1182/blood-2005-04-1622
- Prakasam G., Bamezai R.N.K. Pyruvate Kinase. In: *Encyclopedia of Cancer (Reference Module in Biomedical Sciences)*, 3rd ed. Vol. 3, Elsevier; 2019. P. 311–20. DOI: 10.1016/b978-0-12-801238-3.64999-1. [Электронный ресурс]. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64999-1> [Дата обращения 25.11.2019].
- Meza N.W., Alonso-Ferrero M.E., Navarro S., Quintana-Bustamante O., Valeri A., Garcia-Gomez M., et al. Rescue of pyruvate kinase deficiency in mice by gene therapy using the human isoenzyme. *Mol Ther* 2009; 17 (12): 2000–9. DOI: 10.1038/mt.2009.200
- Valentine W.N., Tanaka K.R., Miwa S. A specific erythrocyte glycolytic enzyme defect (pyruvate kinase) in three subjects with congenital non-spherocytic hemolytic anemia. *Trans Assoc Am Physicians* 1961; 74: 100–10.
- Beutler E., Gelbart T. Estimating the prevalence of pyruvate kinase deficiency from the gene frequency in the general white population. *Blood* 2000; 95 (11): 3585–8.
- Max-Audit I., Testa U., Kechemir D., Titeux M., Vainchenker W., Rosa R. Pattern of pyruvate kinase isozymes in erythroleukemia cell lines and in normal human erythroblasts. *Blood* 1984; 64 (4): 930–6.
- Nakashima K. Further evidence of molecular alteration and aberration of erythrocyte pyruvate kinase. *Clin Chim Acta* 1974; 55 (2): 245–54.
- Kahn A., Marie J. Pyruvate kinases from human erythrocytes and liver. *Methods Enzymol* 1982; 90 (Pt. E): 131–40. DOI: 10.1016/s0076-6879(82)90119-7
- Noguchi T., Inoue H., Tanaka T. The M1- and M2-type isozymes of rat pyruvate kinase are produced from the same gene by alternative RNA splicing. *J Biol Chem* 1986; 261 (29): 13807–12.
- Dombrackas J.D., Santarsiero B.D., Mesecar A.D. Structural basis for tumor pyruvate kinase M2 allosteric regulation and catalysis. *Biochemistry* 2005; 44 (27): 9417–29.
- Jurica M.S., Mesecar A., Heath P.J., Shi W., Nowak T., Stoddard B.L. The allosteric regulation of pyruvate kinase by fructose-1,6-bisphosphate. *Structure* 1998; 6 (2): 195–210.
- Rigden D.J., Phillips S.E.V., Michels P.A.M., Fothergill-Gilmore L.A. The structure of pyruvate kinase from *Leishmania mexicana* reveals details of the allosteric transition and unusual effector specificity. *J Mol Biol* 1999; 291 (3): 615–35.
- Mattevi A., Valentini G., Rizzi M., Speranza M.L., Bolognesi M., Coda A. Crystal structure of *Escherichia coli* pyruvate kinase type I: molecular basis of the allosteric transition. *Structure* 1995; 3 (7): 729–41.
- Valentini G., Chiarelli L.R., Fortin R., Dolzan M., Galizzi A., Abraham D.J., et al. Structure and function of human erythrocyte pyruvate kinase. *J Biol Chem* 2002; 277 (26): 23807–14.
- Allen S.C., Muirhead H. Refined three-dimensional structure of cat-muscle (M1) pyruvate kinase at a resolution of 2.6 Å. *Acta Crystallogr Sect D Biol Crystallogr* 1996; 52 (3): 499–504.
- Larsen T.M., Laughlin L.T., Holden H.M., Rayment I., Reed G.H. Structure of rabbit muscle pyruvate kinase complexed with Mn^{2+} , K^+ , and pyruvate. *Biochemistry* 1994; 33 (20): 6301–9.
- Munoz M.E., Ponce E. Pyruvate kinase: current status of regulatory and functional properties. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2003; 135 (2): 197–218.
- Fothergill-Gilmore L.A., Michels P.A.M. Evolution of glycolysis. *Prog Biophys Mol Biol* 1993; 59 (2): 105–235.
- Valentini G., Chiarelli L., Fortini R., Speranza M.L., Galizzi A., Mattevi A. The allosteric regulation of pyruvate kinase: A site-directed mutagenesis study. *J Biol Chem* 2000; 275 (24): 18145–52.
- Van Berkel T.J.C., Staal G.E.J., Koster J.F., Nyessen J.G., van Milligen-Boersma L. On the molecular basis of pyruvate kinase deficiency II. Role of thiol groups in pyruvate kinase from pyruvate kinase-deficient patients. *Biochim Biophys Acta - Enzymol* 1974; 334 (2): 361–7.
- Zanella A., Fermo E., Bianchi P., Chiarelli L.R., Valentini G. Pyruvate kinase deficiency: The genotype-phenotype association. *Blood Rev* 2007; 21 (4): 217–31.
- Zanella A., Fermo E., Bianchi P., Valentini G. Red cell pyruvate kinase deficiency: Molecular and clinical aspects. *Br J Haematol* 2005; 130 (1): 11–25.
- Wang C., Chiarelli L.R., Bianchi P., Abraham D.J., Galizzi A., Zanella A.M.A., et al. Human erythrocyte pyruvate kinase: Characterization of the recombinant enzyme and a mutant form (R510Q) causing nonspherocytic hemolytic anemia. *Blood* 2001; 98 (10): 3113–20.
- Mattevi A., Bolognesi M., Valentini G. The allosteric regulation of pyruvate kinase. *FEBS Lett* 1996; 389 (1): 15–9.
- Woolf J.O., Friesen R.H.E., White M.A., Watowich S.J., Fox R.O., Lee J.C., et al. Structural and functional linkages between subunit interfaces in mammalian pyruvate kinase. *J Mol Biol* 2001; 312 (3): 525–40.
- Daębrowska A., Pietkiewicz J., Daębrowska K., Czapińska E., Danielewicz R. Interaction of M1 and M2 isozymes pyruvate kinase from human tissues with phospholipids. *Biochim Biophys Acta - Protein Struct Mol Enzymol* 1998; 1383 (1): 123–9.
- Ikeda Y., Noguchi T. Allosteric regulation of pyruvate kinase M2 isozyme involves a cysteine residue in the intersubunit contact. *J Biol Chem* 1998; 273 (20): 12227–33.
- Luo W., Semenza G.L. Emerging roles of PKM2 in cell metabolism and cancer progression. *Trends Endocrinol Metab* 2012; 23 (11): 560–6.
- Ernest I., Callens M., Opperdoes F.R., Michels P.A.M. Pyruvate kinase of *Leishmania mexicana mexicana* Cloning and analysis of the gene, overexpression in *Escherichia coli* and characterization of the enzyme. *Mol Biochem Parasitol* 1994; 64 (1): 43–54.
- Valentini G., Speranza M.L., Iadorola P., Ferri G., Malcovati M. Reactivity of the fructose 1,6-bisphosphate-activated pyruvate kinase from *Escherichia coli* with pyridoxal 5'-phosphate. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1988; 369 (11): 1219–26.
- Kanno H., Fujii H., Hirono A., Miwa S. cDNA cloning of human R-type pyruvate kinase and identification of a single

- amino acid substitution (Thr384----Met) affecting enzymatic stability in a pyruvate kinase variant (PK Tokyo) associated with hereditary hemolytic anemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88 (18): 8218–21.
37. Neubauer B., Lakomek M., Winkler H., Parke M., Hofferbert S., Schröter W. Point mutations in the L-type pyruvate kinase gene of two children with hemolytic anemia caused by pyruvate kinase deficiency. *Blood* 1991; 77 (9): 1871–5.
 38. Manco L., Ribeiro M.L., Almeida H., Freitas O., Abade A., Tamagnini G. PK-LR gene mutations in pyruvate kinase deficient Portuguese patients. *Br J Haematol* 1999; 105 (3): 591–5.
 39. Canu G., De Bonis M., Minucci A., Capoluongo E. Red blood cell PK deficiency: An update of PK-LR gene mutation database. *Blood Cells, Mol Dis* 2016 (March); 57: 100–9.
 40. Martinov M.V., Plotnikov A.G., Vitvitsky V.M., Ataullakhanov F.I. Deficiencies of glycolytic enzymes as a possible cause of hemolytic anemia. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj* 2000; 1474 (1): 75–87.
 41. Van Wijk R., Van Solinge W.W., Nerlov C., Beutler E., Gelbart T., Rijksen G., et al. Disruption of a novel regulatory element in the erythroid-specific promoter of the human PKLR gene causes severe pyruvate kinase deficiency. *Blood* 2003; 101 (4): 1596–602.
 42. Lenzner C., Nürnberg P., Jacobasch G., Gerth C., Thiele B.J. Molecular analysis of 29 pyruvate kinase-deficient patients from central Europe with hereditary hemolytic anemia. *Blood* 1997; 89 (5): 1793–9.
 43. Zarza R., Alvarez R., Pujades A., Nomdedeu B., Carrera A., Estella J., et al. Molecular characterization of the PK-LR gene in pyruvate kinase deficient Spanish patients. Red Cell Pathology Group of the Spanish Society of Haematology (AEHH). *Br J Haematol* 1998; 103 (2): 377–82.
 44. Lenzner C., Nürnberg P., Thiele B.J., Reis A., Brabec V., Sakalova A., et al. Mutations in the pyruvate kinase L gene in patients with hereditary hemolytic anemia. *Blood* 1994; 83 (10): 2817–22.
 45. Kanno H., Ballas S.K., Miwa S., Fujii H., Bowman H.S. Molecular abnormality of erythrocyte pyruvate kinase deficiency in the Amish. *Blood* 1994; 83 (8): 2311–6.
 46. Baronciani L., Beutler E. Molecular study of pyruvate kinase deficient patients with hereditary nonspherocytic hemolytic anemia. *J Clin Invest* 1995; 95 (4): 1702–9.
 47. Miwa S., Fujii H. Molecular basis of erythroenzymopathies associated with hereditary hemolytic anemia: Tabulation of mutant enzymes. *Am J Hematol* 1996; 51 (2): 122–32.
 48. Miwa S., Kanno H., Fujii H. Pyruvate kinase deficiency: Historical perspective and recent progress of molecular genetics. *Am J Hematol* 1993; 42 (1): 31–5.
 49. Baronciani L., Beutler E. Analysis of pyruvate kinase-deficiency mutations that produce nonspherocytic hemolytic anemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90 (9): 4324–7.
 50. Kedar P., Hamada T., Warang P., Nadkarni A., Shimizu K., Fujii H., et al. Spectrum of novel mutations in the human PKLR gene in pyruvate kinase-deficient Indian patients with heterogeneous clinical phenotypes. *Clin Genet* 2009; 75 (2): 157–62.
 51. Kugler W., Willaschek C., Holtz C., Ohlenbusch A., Laspe P., Krügener R., et al. Eight novel mutations and consequences on mRNA and protein level in pyruvate kinase-deficient patients with nonspherocytic hemolytic anemia. *Hum Mutat* 2000; 15 (3): 261–72.
 52. Pissard S., Max-Audit I., Skopinski L., Vasson A., Vivien P., Bimet C., et al. Pyruvate kinase deficiency in France: A 3-year study reveals 27 new mutations. *Br J Haematol* 2006; 133 (6): 683–9.
 53. Montllor L., Mañú-Pereira M.D., Llaudet-Planas E., Gómez Ramírez P., Sevilla Navarro J., Vives-Corrons J.L. Red cell pyruvate kinase deficiency in Spain: A study of 15 cases. *Med Clin (Barc)* 2017; 148 (1): 23–7 (in Spanish, abstract in English). DOI: 10.1016/j.medcli.2016.10.004.
 54. Mojzikova R., Koralkova P., Holub D., Zidova Z., Pospisilova D., Cermak J., et al. Iron status in patients with pyruvate kinase deficiency: Neonatal hyperferritinaemia associated with a novel frameshift deletion in the PKLR gene (p.Arg518fs), and low hepcidin to ferritin ratios. *Br J Haematol* 2014; 165 (4): 556–63.
 55. Castro O., Kato G.J. Iron restriction in sickle cell anemia: Time for controlled clinical studies. *Am J Hematol* 2015; 90 (12): E217.
 56. Zanella A., Bianchi P., Baronciani L., Zappa M., Bredi E., Vercellati C., et al. Molecular characterization of PK-LR gene in pyruvate kinase-deficient Italian patients. *Blood* 1997; 89 (10): 3847–52.
 57. Larsen T.M., Benning M.M., Raymond I., Reed G.H. Structure of the bis(Mg²⁺)-ATP-oxalate complex of the rabbit muscle pyruvate kinase at 2.1 Å resolution: ATP binding over a barrel. *Biochemistry* 1998; 37 (18): 6247–55.
 58. Lakomek M., Huppke P., Neubauer B., Pekrun A., Winkler H., Schröter W. Mutations in the R-type pyruvate kinase gene and altered enzyme kinetic properties in patients with hemolytic anemia due to pyruvate kinase deficiency. *Ann Hematol* 1994; 69 (5): 253–60.
 59. Wijk R., van Wesel A.C.W., Thomas A.A.M., Rijksen G., van Solinge W.W. Ex vivo analysis of aberrant splicing induced by two donor site mutations in PKLR of a patient with severe pyruvate kinase deficiency. *Br J Haematol* 2004; 125 (2): 253–63.
 60. Grace R.F., Layton D.M., Barcellini W. How we manage patients with pyruvate kinase deficiency. *Br J Haematol* 2019; 184 (5): 721–34.
 61. Grace R.F., Bianchi P., van Beers E.J., Eber S.W., Glader B., Yaish H.M., et al. Clinical spectrum of pyruvate kinase deficiency: Data from the pyruvate kinase deficiency natural history study. *Blood* 2018; 131 (20): 2183–92.
 62. Grace R.F., Zanella A., Neufeld E.J., Mor-ton D.H., Eber S., Yaish H., et al. Erythrocyte pyruvate kinase deficiency: 2015 status report. *Am J Hematol* 2015; 90 (9): 825–30.
 63. Grace R.F., Cohen J., Egan S., Wells T., Witherspoon B., Ryan A., et al. The burden of disease in pyruvate kinase deficiency: Patients' perception of the impact on health-related quality of life. *Eur J Haematol* 2018; 101 (6): 758–65.
 64. Garate Z., Quintana-Bustamante O., Crane A.M., Olivier E., Poirot L., Galetto R., et al. Generation of a high number of healthy erythroid cells from gene-edited pyruvate kinase deficiency patient-specific induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports* 2015; 5 (6): 1053–66.
 65. Garcia-Gomez M., Calabria A., Garcia-Bravo M., Benedicenti F., Kosinski P., Lopez-Manzaneda S., et al. Safe and efficient gene therapy for pyruvate kinase deficiency. *Mol Ther* 2016; 24 (7): 1187–98.
 66. Kung C., Hixon J., Kosinski P.A., Cianchetta G., Histen G., Chen Y., et al. AG-348 enhances pyruvate kinase activity in red blood cells from patients with pyruvate kinase deficiency. *Blood* 2017; 130 (11): 1347–56.
 67. Tanphaichit V.S., Suvatte V., Issaragrisil S., Mahasandana C., Veerakul G., Chongkolwatana V., et al. Successful bone marrow transplantation in a child with red blood cell pyruvate kinase deficiency. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26 (6): 689–90.

Современные подходы к лечению гемофилии

Д.Б. Флоринский, П.А. Жарков

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

«Золотым стандартом» терапии гемофилии уже 60 лет остается применение концентратов факторов. В последние годы отмечается бурное развитие опций лечения. В клиническую практику внедрены концентраты с длительным периодом полувыведения, а также применяется нефакторный вид терапии – биспецифическое антитело, имитирующее функцию активированного фактора VIII. Обнадеживающие результаты в клинических исследованиях показывает применение антител к ингибитору пути тканевого фактора, интерферирующего агента РНК, ингибирующего антитромбин, а также генной терапии. Преимуществами новых методов лечения является сокращение частоты внутривенных инъекций и улучшение приверженности терапии, особенно у пациентов с ингибиторной формой гемофилии.

Долгосрочная безопасность и эффективность требуют дальнейшего изучения.

Ключевые слова: гемофилия, концентраты факторов, эмицизумаб, генная терапия

Флоринский Д.Б. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 131–138. DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-131-138

Modern approaches in hemophilia therapy

D.B. Florinskiy, P.A. Zharkov

Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

For 60 years the "gold standard" of hemophilia treatment has been the use of concentrates factors. In recent years, there has been a rapid development of therapeutics. Several extended half-life concentrates have been introduced into clinical practice, as well as a non – factorial type of therapy – a bispecific antibody mimicking activated factor VIII. Encouraging results in clinical trials show the use of antibodies to tissue factor pathway inhibitor, small interfering RNA to antithrombin and gene therapy. The advantages of new treatment methods are a reduction in the frequency of intravenous injections and improved adherence to therapy, especially in patients with inhibitors. Long-term safety and effectiveness require further study.

Key words: hemophilia, factor concentrates, emicizumab, gene therapy

Florinskiy D.B., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 131–138. DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-131-138

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 01.06.2020
Принята к печати 17.07.2020

Контактная информация:
Флоринский Дмитрий Борисович,
врач-ординатор ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: mitia94@yandex.ru

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPOI»
Received 01.06.2020
Accepted 17.07.2020

Correspondence:
Dmitry B. Florinskiy,
resident in pediatrics, Dmitry Rogachev
National Medical Research Center
of Pediatric Hematology, Oncology
and Immunology, Ministry of Healthcare
of Russian Federation
Address: Russia, 117997, Moscow,
Samory Mashela st., 1
E-mail: mitia94@yandex.ru

Гемофилии А и В – наследственные X-сцепленные рецессивные заболевания, вызванные дефицитом или отсутствием факторов свертывания крови VIII (кодируется геном F8) или IX (кодируется геном F9). По тяжести заболевания делятся на 3 степени, учитывая активность фактора: тяжелая степень (< 1%), средняя степень (1–5%) и легкая степень (от > 5% до < 40%) [1]. Первые упоминания о гемофилии датируются II в. до н.э.: в вавилонском Талмуде упоминается, что если у женщины двое сыновей умерли от кровотечения во время обрезания, третий ребенок может быть оставлен необрезанным. Слово «гемофилия» впервые было задокументировано в 1828 г. немецким врачом Иоганном Лукасом Шенлейни и его учеником Фридрихом Хопффом, которые описали состояние в диссертации "Über die Hämophilie oder die erbliche Anlage zu tödtlichen Blutungen" («О гемофилии или наследственной предрасположенности к смертельному кровотечению»), выполненной в Университете Цюриха (Швейцария). Данное заболевание часто называют «королевская болезнь», так как некоторые члены европейской королевской семьи болели гемофилией. Сегодня мы

знаем, что «королевская болезнь» в Европе на самом деле была гемофилией В [2]. Ниже будут рассмотрены современные возможности лечения и профилактики гемофилии А и В, а также освещены новые аспекты терапии.

Терапия гемофилии

В настоящее время стандартом терапии неосложненных ингибитором форм гемофилии является применение концентратов факторов VIII и IX для достижения адекватного гемостаза. Внедрение концентратов позволило добиться существенного прогресса в улучшении качества жизни, замедлить прогрессирование артропатии и снизить смертность от кровотечений [1]. Для купирования кровотечений при гемофилии имеется большой выбор концентратов: плазменные, рекомбинантные, концентраты фактора VIII, полученные из плазмы крови свиньи, и концентраты с длительным периодом полувыведения.

Плазменные концентраты

Удовлетворительное лечение пациентов с гемофилией стало возможным с развитием технологий

изготовления плазменных концентратов в конце 1960-х годов [3]. В последующие 2 десятилетия концентраты факторов VIII и IX производились исключительно из человеческой плазмы, собранной от большого числа доноров, что явилось причиной передачи трансмиссивных инфекций, таких как вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), гепатиты В и С. В конце 1970-х – начале 1980-х годов производство 1 плазменного концентрата требовало сбора плазмы более чем у 2000 доноров (без вирусинализирующих технологий), что привело к международной катастрофе, когда большое число больных гемофилией заразились трансмиссивными инфекциями, в особенности ВИЧ и гепатитом С. По оценкам, около 9300 пациентов с гемофилией в США (почти половина от общего числа больных) были инфицированы ВИЧ, а около 80% – гепатитом С [4]. Эта трагедия побудила провести дополнительные исследования, чтобы повысить безопасность плазменных концентратов. Сегодня технологии вирусинактивации стали более развитыми, риск передачи вируса стремится к нулю, на рынке присутствуют более 20 производителей плазменных концентратов, имеющих схожую эффективность и отличающихся методом очистки, степенью пурификации, наличием фактора Виллебранда и стандартизацией дозы [5]. Минусом плазменных концентратов является возможность передачи вирусной инфекции, такой как парвовирус B19, а также теоретическая вероятность передачи прионных болезней, хотя на данный момент таких случаев не зарегистрировано [6].

Рекомбинантные концентраты

В 1984 г. был открыт ген фактора VIII, что позволило создать концентрат на основе молекулярных технологий. Концентрат рекомбинантного фактора VIII стал доступен в 1992 г., концентрат IX фактора – в 1998 г. [3]. Преимуществами рекомбинантных концентратов являются их абсолютная инфекционная безопасность, а также более дешевая и стабильная технология производства. Рекомбинантные факторы делятся на 4 поколения. Принцип деления отражает уменьшение воздействия животных белков на производство от 1-го к 4-му поколению [7].

Концентрат фактора VIII, произведенный из плазмы крови свиньи

Рекомбинантный В-домен-деплетированный свиной фактор VIII доступен для лечения пациентов с аутоантителами к фактору VIII (т. е. пациентов с приобретенным ингибитором фактора VIII). Этот продукт не лицензирован для использования у пациентов с наследственной гемофилией А [8].

Концентраты с длительным периодом полувыведения

Частые внутривенные инъекции концентрата необходимы из-за относительно короткого периода полужизни факторов (10–14 ч для фактора VIII и 18–22 ч для фактора IX). Начиная с 2010-х годов, были предприняты попытки создать факторы, которые бы дольше оставались в крови и, следовательно, сокращали количество внутривенных введений. Были разработаны 2 основных метода: соединение фактора свертывания с белками, такими как часть Fc IgG1 или альбумин [9], и соединение с химическими веществами, такими как полиэтиленгликоль [10]. В настоящее время существует большое количество препаратов факторов VIII и IX с длительным периодом полувыведения: 16–20 ч и 100–120 ч соответственно. Это позволяет пациентам с гемофилией А проводить профилактику концентратами 2 раза в неделю, а пациентам с гемофилией В – 1 раз в неделю или даже 1 раз в 2 нед, что улучшает приверженность терапии и связано со значительным уменьшением геморрагического синдрома [11]. Данные препараты не зарегистрированы на территории Российской Федерации (РФ).

Расчет дозы концентрата и целевая активность факторов VIII и IX для терапии кровотечений

Кровотечение у пациентов с гемофилией должно всегда рассматриваться как экстренная ситуация, требующая быстрой оценки и немедленного введения концентрата фактора с расчетом доз препаратов и продолжительности лечения в зависимости от целевого значения активности дефицитного фактора и вида кровотечения [12]. Для гемофилии А в среднем введение 1 МЕ/кг концентрата фактора VIII повышает его активность на 2%, т. е. требуется 50 МЕ/кг, чтобы достичь 100% активности, либо продленная инфузия после инициального болюсного введения из расчета 4 МЕ/кг/ч, которая будет поддерживать активность фактора на достигнутом изначально уровне постоянно [12]. Для гемофилии В в среднем введение 1 МЕ/кг концентрата фактора IX повышает его активность на 1%, т. е. требуется 100 МЕ/кг, чтобы достичь 100% активности, либо продленная инфузия после инициального болюсного введения из расчета 6 МЕ/кг/ч [12]. Особенностью фармакокинетики концентратов факторов у детей до 1 года является повышенное распределение препарата, что может потребовать введения больших доз концентрата для достижения требуемой активности фактора [13].

Профилактика как стандарт терапии

Учитывая высокую эффективность заместительной терапии для купирования кровотечений у больных гемофилией, в 1968 г. был применен прин-

ципально новый подход – профилактика кровотечений [14]. Первичная профилактика подразумевает регулярное проведение заместительной терапии, начинается при отсутствии признаков повреждения суставов, до 3-летнего возраста и хотя бы до 2-го эпизода гемартроза. Вторичная профилактика – регулярное проведение заместительной терапии, начинается после 2 гемартрозов или более до появления признаков повреждения суставов. Третичная профилактика – регулярное проведение заместительной терапии, начинается при подтверждении повреждения суставов, может быть начата в любом возрасте. Периодическая профилактика подразумевает введение концентратов факторов в целях предотвращения кровотечений не более 45 нед в год [12]. Профилактическая терапия показала свою высокую эффективность в уменьшении количества кровотечений, отсроченных осложнений, таких как хроническая артропатия, болей, а также позволила снизить частоту фатальных кровотечений. Дополнительными и важными преимуществами такого подхода являются улучшение качества жизни пациентов, в том числе уменьшение количества госпитализаций и пропущенных занятий в школе и дней на работе, а также улучшение показателей социальной активности [15]. Идеальной целью профилактики является отсутствие кровотечений. Было показано, что пациенты с активностью фактора более 1% гораздо реже имеют спонтанную кровоточивость, реже страдают от гемартрозов и, соответственно, имеют лучшую функцию суставов, чем больные с тяжелой гемофилией. Таким образом, основой профилактической терапии является поддержание активности фактора выше 1% [16]. Исследования показали, что наличие 2 кровоизлияний в сустав и более в год приводит к поражению сустава и в дальнейшем к ухудшению его функции [17].

Расчет дозы концентрата и целевая активность факторов VIII и IX при профилактике

Цель профилактического лечения – поддерживать активность дефицитного фактора VIII или IX выше 1–2%. При гемофилии А рекомендуется использовать инфузию фактора VIII от 20 до 40 МЕ/кг массы тела через день или 3 раза в неделю. При гемофилии В – инфузию фактора IX от 25 до 40 МЕ/кг массы тела каждый 3-й день или 2 раза в неделю [12]. Однако по мере реализации профилактики встретила некоторые препятствия, степень приверженности терапии часто была недостаточной, в особенности у подростков, из-за необходимости проводить внутривенные инъекции 2–3 раза в неделю. Кроме того, проведение профилактического лечения при гемофилии, особенно у детей, затруднено вследствие проблем ограниченного венозного доступа,

что зачастую диктует необходимость в установке центрального катетера. При всех плюсах центрального доступа не стоит забывать об осложнениях, таких как тромбоз, катетерная инфекция, технические сложности при самостоятельном использовании [18]. Другой опцией является наложение артериовенозной фистулы, которая хорошо воспринимается детьми и их родителями, риск инфекционных осложнений при этом крайне низок [19]. Возможность проведения профилактического лечения зависит от многих причин, например от исходной активности дефицитного фактора, выраженности геморрагического синдрома, активности и возраста пациента, а также простоты достижения венозного доступа [20]. За последние десятилетия удалось добиться колоссального прогресса в лечении гемофилии, однако одним из важнейших осложнений заместительной терапии остается высокая частота формирования ингибитора к вводимому и собственному факторам свертывания.

Ингибиторная форма гемофилии

Ингибитор – поликлональное высокоаффинное IgG-антитело, которое специфически нейтрализует прокоагулянтную активность факторов свертывания крови, делая процесс управления кровотечением затруднительным. Титр ингибитора измеряется в Бетезда единицах (БЕ). Различают транзиторный (< 5 БЕ), который сохраняется менее 6 мес, низко-реагирующий (< 5 БЕ), высокореагирующий (≥ 5 БЕ) ингибиторы. Ингибиторы при гемофилии А возникают у 20–30% пациентов. Появление ингибиторов связано с ухудшением прогноза: более высокая частота кровотечений, ускорение развития артропатии и снижение качества жизни [21]. Наиболее высокий риск развития ингибиторов наблюдается у пациентов, получающих первые 50–100 введений концентрата фактора VIII [12]. После 150 дней введения риск возникновения ингибиторов не превышает 0,3% [22]. Для гемофилии В частота возникновения ингибитора существенно ниже – 1,5–3%. Для лечения ингибиторной формы гемофилии В применяются те же протоколы, что и для гемофилии А, но с гораздо меньшим процентом удовлетворительного исхода. Проблемы, с которыми приходится сталкиваться: тяжелые анафилактические реакции на концентрат, развитие нефротического синдрома при проведении индукции иммунной толерантности (ИИТ). Наиболее эффективным и безопасным способом добиться полной эрадикации ингибиторов при гемофилии А является проведение ИИТ. Принцип ИИТ заключается в повторных инфузиях концентрата фактора VIII с целью добиться толерантности иммунной системы к введению «чужеродного» фактора, прекращения выработки антител и соответственно восстано-

ления контроля над геморрагическими проявлениями заболевания. ИИТ позволяет добиться эрадикации ингибиторов у 60–80% пациентов, что приводит к нормальному ответу на терапию фактором свертывания VIII и удовлетворительному контролю кровотечений [23]. Хотя ИИТ остается единственным общепризнанным методом полной эрадикации ингибитора, реальная эффективность данного метода требует дополнительного анализа. Процент удачного результата ИИТ сильно зависит от исходного титра ингибиторов. По данным исследования К. Хольштейна и соавт., высокий процент хороших исходов достигается в основном у пациентов с низкорезагирующим либо транзиторным ингибитором, перспективы больных гемофилией А с высокорезагирующими ингибиторами и лиц с ингибиторной формой гемофилии В не такие обнадеживающие [24]. Проведение ИИТ требует высокой комплаентности, большого количества концентрата, наличия венозного доступа, а также шунтирующих препаратов, способных обеспечить адекватный гемостаз.

Терапия геморрагического синдрома у пациентов с ингибиторными формами гемофилии А и В

Основной проблемой пациентов с ингибиторами к факторам VIII и IX является невозможность адекватно контролировать геморрагический синдром концентратами факторов. На данный момент единственной опцией контроля кровотечений при ингибиторных формах остается применение препаратов шунтирующего действия: антиингибиторного коагулянтного комплекса (АИКК) и активированного эптакога альфа (rFVIIa) [12]. Рандомизированное клиническое исследование сравнения этих 2 препаратов было проведено в 2007 г. и показало их схожую эффективность в купировании кровотечений, но для пациента индивидуально может быть эффективен 1 из 2 препаратов. Для купирования геморрагических эпизодов при ингибиторной форме гемофилии рекомендованы следующие дозы: rFVIIa 90–120 мкг/кг каждые 2–4 ч до купирования кровотечения либо АИКК 50–100 Ед/кг каждые 12 ч (максимальная суточная доза 200 МЕ/кг) [12]. Для гемофилии В при наличии анафилактических реакций на введение концентрата в анамнезе рекомендуется избегать терапии АИКК, так как там

содержится фактор IX, способный вызвать анафилаксию [25]. Возможно профилактическое лечение препаратами шунтирующего действия (таблица 1).

Несмотря на то, что факторная терапия коренным образом улучшила качество жизни пациентов, до сих пор остаются нерешенными несколько проблем, в том числе риск формирования ингибитора и необходимость частых внутривенных инфузий, снижающая приверженность пациентов терапии [24]. Статистика Всемирной организации здравоохранения показывает, что приверженность лечению у пациентов с гемофилией варьирует от 50 до 60% [26]. Все эти аспекты требуют разработки и внедрения новых методов лечения гемофилии.

Моноклональные антитела. Эмицизумаб – революция 21 века?!

Эмицизумаб является гуманизированным асимметричным биспецифическим рекомбинантным IgG4-моноклональным антителом, имитирующим функцию активированного фактора VIII при гемофилии А, соединяя активированные факторы IX и X и стимулируя фактор IXa-опосредованную активацию фактора X. Преимуществами эмицизумаба перед другими препаратами являются подкожный путь введения и его способность осуществлять гемостатический эффект независимо от наличия ингибиторов к фактору VIII [27], что позволяет использовать данный препарат у пациентов с ингибиторной и неингибиторной формами гемофилии А. Применение эмицизумаба в стандартной дозировке позволяет добиться концентрации препарата в плазме 36–61 мкг/мл, что соответствует ~14,6% активности фактора VIII [28]. На данный момент продолжаются клинические исследования эффективности препарата, некоторые фазы уже завершены и показали впечатляющие результаты (таблица 2).

Дозирование препарата: нагрузочная доза 3 мг/кг 1 раз в неделю – 4 нед подкожно. Поддерживающая доза – 1,5 мг/кг 1 раз в неделю подкожно либо 3 мг/кг 1 раз в 14 дней подкожно, либо 6 мг/кг 1 раз в 28 дней подкожно. Препарат очень прост в дозировании, удобен для пациентов, не требует рутинного контроля концентрации в крови, однако влияет на некоторые лабораторные тесты и не может быть

Таблица 1
Профилактическое лечение пациентов с ингибиторами [12]

Table 1
Prophylactic treatment of patients with inhibitors [12]

Препарат Agent	Во время ИИТ During induction of immune tolerance	Вне ИИТ Outside induction of immune tolerance
Эптаког альфа (rFVIIa) Eptacog alpha (rFVIIa)	Краткосрочная профилактика до 3 мес в режиме 90 мкг/кг 1 раз в сутки Short-term prophylactic up to 3 months 90 µg/kg/day	Краткосрочная профилактика до 3 мес в режиме 90 мкг/кг 1 раз в сутки Short-term prophylactic up to 3 months 90 µg/kg/day
АИКК Anti-inhibitor coagulant complex	В дозе 50–100 Ед/кг каждые 12 ч до снижения титра ингибитора менее 2 БЕ 50–100 µg/kg every 12 hours unless inhibitor is less than 2 BU	В дозе 30–100 Ед/кг 3 раза в неделю или через день 30–100 µg/kg 3 times per week or every other day

Таблица 2

Пролеченные кровотечения в клинических исследованиях HAVEN [29]

Table 2

Treated bleeds over time in HAVEN studies [29]

Параметр Parameter	1–24-я недели 1–24 weeks	25–48-я недели 25–48 weeks	49–72-я недели 49–72 weeks	73–96-я недели 73–96 weeks
HAVEN 1 (n = 113; взрослые пациенты с ингибиторной формой гемофилии) HAVEN 1 (n = 113; adults hemophilia with inhibitors)				
Число пациентов, n Number of patients, n	109	101	97	73
Среднее число кровотечений (95% ДИ) Mean ABR (95% CI)	3,1 (0,6–8,8)	0,6 (0,0–4,9)	0,4 (0,0–4,6)	0,4 (0,0–4,5)
Доля пациентов без кровотечений (95% ДИ) % with 0 bleeds (95% CI)	71,6 (62,1–79,8)	84,2 (75,6–90,7)	87,6 (79,4–93,4)	86,3 (76,3–93,2)
Доля пациентов с 0–3 кровотечениями (95% ДИ) % with 0–3 bleeds (95% CI)	89,0 (81,6–94,2)	99,0 (94,6–100)	97,9 (92,8–100)	100,0 (95,1–100)
HAVEN 2 (n = 88; дети с ингибиторной формой гемофилии) HAVEN 2 (n = 88; children hemophilia with inhibitors)				
Число пациентов, n Number of patients, n	86	64	49	18
Среднее число кровотечений (95% ДИ) Mean ABR (95% CI)	0,4 (0,0–4,5)	0,3 (0,0–4,4)	0,3 (0,0–4,2)	0,1 (0,0–3,9)
Доля пациентов без кровотечений (95% ДИ) % with 0 bleeds (95% CI)	87,2 (78,3–93,4)	87,5 (76,9–94,5)	87,8 (75,2–95,4)	94,4 (72,7–99,9)
Доля пациентов с 0–3 кровотечениями (95% ДИ) % with 0–3 bleeds (95% CI)	100 (95,8–100)	100 (94,4–100)	100 (92,8–100)	100 (81,5–100)
HAVEN 3 (n = 151; взрослые без ингибитора) HAVEN 3 (n = 151; adults hemophilia without inhibitors)				
Число пациентов, n Number of patients, n	148	144	129	23
Среднее число кровотечений (95% ДИ) Mean ABR (95% CI)	1,8 (0,2–7,0)	0,9 (0,0–5,5)	0,9 (0,0–5,5)	0,2 (0,0–4,1)
Доля пациентов без кровотечений (95% ДИ) % with 0 bleeds (95% CI)	62,8 (54,5–70,6)	72,9 (64,9–80,0)	77,5 (69,3–84,4)	91,3 (72,0–98,9)
Доля пациентов с 0–3 кровотечениями (95% ДИ) % with 0–3 bleeds (95% CI)	93,2 (87,9–96,7)	97,2 (93,0–99,2)	96,9 (92,3–99,2)	100 (85,2–100)
HAVEN 4 (n = 48; доза эмицизумаба 1 раз в месяц) HAVEN 4 (n = 48; emicizumab dosage 1 per month)				
Число пациентов, n Number of patients, n	48	45	9	0
Среднее число кровотечений (95% ДИ) Mean ABR (95% CI)	2,1 (0,3–7,4)	1,5 (0,1–6,4)	Нет данных No data	Нет данных No data
Доля пациентов без кровотечений (95% ДИ) % with 0 bleeds (95% CI)	64,6 (49,5–77,8)	77,8 (62,9–88,8)	Нет данных No data	Нет данных No data
Доля пациентов с 0–3 кровотечениями (95% ДИ) % with 0–3 bleeds (95% CI)	91,7 (80,0–97,7)	95,6 (84,9–99,5)	Нет данных No data	Нет данных No data

Примечание. ДИ – доверительный интервал.

Note. CI – confidence interval.

использован в качестве средства для купирования острых кровотечений. В последнем случае возникает вопрос о лечении «прорывных» кровотечений у пациентов с ингибиторной формой гемофилии А на фоне терапии эмицизумабом. Наиболее серьезным нежелательным явлением на фоне терапии эмицизумабом является развитие тромботической микроангиопатии и тромбозов. По данным компании-производителя эмицизумаба, за все время клинических испытаний было зарегистрировано 4 случая развития тромботической микроангиопатии, связанные с совместным применением АИКК в дозе более 100 МЕ/кг/сут, а также 18 случаев развития тромбозов у пациентов с другими факторами риска их возникновения. На основании полученных данных следует избегать у пациентов на профилактике эмицизумабом совместного применения АИКК в дозе, превышающей 100 МЕ/кг/сут. Для купирования кровотечений на фоне терапии эмицизумабом пациентам без ингибиторов рекомендовано проводить инфузии концентрата фактора VIII, с ингибитором – использование эптакта альфа в дозировке 90–120 мкг/кг [30].

Несмотря на опубликованные данные, некоторые вопросы терапии эмицизумабом остаются открытыми: как взаимодействует в долгосрочной перспективе эмицизумаб и другие гемостатические препараты, следует ли продолжать терапию ИИТ при ингибиторной форме, если пациент находится на профилактике эмицизумабом, как адекватно проводить терапию острых кровотечений и в особенности периоперационную поддержку больных на профилактике эмицизумабом?

Учитывая, что биспецифическое моноклональное антитело эмицизумаб продемонстрировало значительное снижение кровотечений у пациентов с ингибиторами [30], возникает вопрос: должны ли пациентам с ингибиторами проводить режимы ИИТ? В настоящее время консенсуса нет, большинство специалистов рекомендуют хотя бы 1 этап терапии ИИТ, так как успешное удаление ингибитора позволяет выбрать более безопасные варианты лечения для предотвращения кровотечений (например, генная терапия) и лечения острых кровотечений (использование концентрата фактора VIII вместо препаратов

шунтирующего действия]. Эмицизумаб с 15.10.2018 зарегистрирован на территории РФ и успешно применяется для профилактического лечения пациентов [31].

Концизумаб – высокоаффинное гуманизованное моноклональное антитело к ингибитору пути тканевого фактора. Ингибитор пути тканевого фактора является основным физиологическим регулятором активности последнего, ингибируя комплекс «тканевой фактор – активированный фактор VII (FVIIa)», таким образом регулируя генерацию тромбина и образование фибрина. Блокирование ингибитора позволяет генерироваться фактору Ха и, соответственно, тромбину даже в отсутствие факторов VIII и IX. На данный момент препарат прошел фазу II клинических испытаний. Вводится концизумаб подкожно, ежедневно, доза начинается от 0,15 мг/кг с дальнейшей эскалацией, если требуется. Применяется у пациентов с гемофилией А и В и ингибиторной формой. Результаты исследования фазы II подтвердили значительное снижение частоты кровотечений на 80–90% при сравнении с терапией эптаксом альфа по требованию [32]. На фазе III клинических исследований возникло 3 случая тромбоза, в связи с чем исследование приостановлено до выяснения обстоятельств. Также другие препараты моноклональных антител к ингибитору пути тканевого фактора начинают проходить клинические испытания: PF-06741086, MG1113 и др. [33].

Фитузиран – интерферирующий агент РНК (ALN-B 3; фитузиран), который воздействует на матричную РНК в гепатоцитах, выключая печеночную экспрессию матричной РНК антитромбина (АТ) путем ее связывания и деградации, таким образом снижая синтез АТ приблизительно до 30% и позволяя добиться генерации тромбина, сопоставимой с нормальным гемостазом. Основанием для разработки препарата послужило наблюдение, что у пациентов с гемофилией и сопутствующим дефицитом АТ наблюдается более мягкий фенотип кровоточивости [34]. На данный момент препарат проходит фазу III клинических испытаний, в том числе у детей, используется подкожно 1 раз в месяц в дозировке 50 либо 80 мг. Фитузиран может быть использован для профилактики гемофилии А и В и ингибиторных форм. По результатам фазы II клинических испытаний у пациентов без ингибиторов наблюдалось снижение среднего количества кровотечений до 1 в год и среднее количество спонтанных кровотечений до 0 в год, у 8 (50%) из 16 пациентов не наблюдалось кровотечений вообще, у 11 (69%) из 16 больных не наблюдалось спонтанных кровотечений. У пациентов с ингибиторной формой гемофилии на фоне терапии фитузираном снизилось среднее количество кровотечений до 0 в год, у 9 (56%) из 16 пациентов

не наблюдалось кровотечений вообще, у 11 (69%) из 16 пациентов не наблюдалось спонтанных кровотечений. Побочные эффекты при терапии фитузираном: повышение аланинаминотрансферазы (32%), головная боль (24%), эритема на стороне инъекции (21%), артралгия (18%). В 2017 г. у пациента с гемофилией А, включенного в исследование фитузирана, был выявлен фатальный тромбоз венозного синуса, ассоциированный с терапией концентратом фактора VIII в дозе от 30–40 МЕ/кг, в связи с чем испытания были приостановлены, но после введения новых рекомендаций по терапии кровотечений (ограничение максимальных доз концентратов факторов и препаратов шунтирующего действия) на профилактическом лечении фитузираном тромботических осложнений не возникало [35].

Генная терапия обеспечивает внедрение экзогенной ДНК в клетки человека для обеспечения продукции недостающего белка. Первоначальный барьер неэффективной доставки генетического материала в клетки- и ткани-мишени преодолевается путем присоединения вирусных векторов, полученных из вирусов млекопитающих, которые содержат минимальные вирусные последовательности дикого типа, а их патогенные, репликативные и структурные вирусные гены заменены терапевтической генной кассетой. За прошедшие годы перенос генов печени *in vivo* с использованием аденоассоциированных вирусных векторов (AAB) показал наибольшие успехи в доклинических и клинических исследованиях [36]. AAB получены из AAB дикого типа 8, члена семейства парвовирусов. AAB дикого типа являются непатогенными и обладают слабыми иммуногенными свойствами, а также недостаточной репликативной активностью. В связи с этим для их успешной репликации требуется вспомогательный вирус. В 2 отдельных клинических исследованиях фазы I/II генной терапии на основе AAB при гемофилии А в настоящее время сообщается о стабильных уровнях фактора VIII после однократной векторной дозы. Эти исследования демонстрируют, что генная терапия является эффективным методом лечения взрослых пациентов с гемофилией А. При гемофилии В в настоящее время сообщается о стабильной экспрессии терапевтического фактора IX после однократного лечения с использованием AAB. Учитывая устойчивость экспрессии на данный момент около 6 лет, вполне вероятно, что генная терапия AAB при гемофилии В будет весьма удобным терапевтическим вариантом для пациентов. Альтернативой AAB является интеграция лентивируса для лечения детей с гемофилией. Терапия показала свою эффективность в эксперименте на мышах. Предстоит оценить эффективность интеграции лентивируса *in vivo* [37]. На данный момент проходит большое коли-

чество клинических исследований генной терапии при гемофилиях А и В [38].

В связи с бурным развитием технологий генной терапии возникают принципиально новые вопросы, касаемые эффективности и безопасности такого вида лечения: возможно ли проводить генную терапию у пациентов с ингибиторами, какова вероятность возникновения ингибиторов после терапии, вопросы безопасности (тромбозы, тромботическая микроангиопатия, потенциальное канцерогенное действие), можно ли начать терапию в детском возрасте (идеально до первого кровотечения в сустав)? Кроме того, пока трудно судить о длительности эффекта генной терапии (проводить введение однократно или требуются повторные введения).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За последние 70 лет произошли колоссальные изменения в подходах, оценке, доступности терапии и качестве жизни пациентов с гемофилией. Если изначально речь шла о том, чтобы пациент не погиб от кровотечения, то теперь все силы направлены на то, чтобы повысить качество жизни больных гемофилией, сделать их абсолютно независимыми и полноправными членами общества, чтобы такие личности, как Барри Хорде, Алекс Доусетт, Джесси Шрейдер, не были исключениями из правил, и каждый ребенок, больной гемофилией, мог иметь

возможность жить так же, как и дети без данного заболевания. С внедрением новых методов лечения удалось добиться большого прогресса, но, как было сказано ранее, «золотым стандартом» терапии остаются внутривенные инфузии концентратов факторов, которые имеют целый ряд ограничений, снижающих приверженность пациентов такому виду лечения. Недостаточный контроль заболевания приводит к повторным гемартрозам и в дальнейшем к стойкой артропатии пораженных суставов. Особняком стоит проблема пациентов с ингибиторами, у которых существующая терапия крайне тяжело переносима и далеко не всегда успешна. Появление новых препаратов с принципиально новым механизмом действия и более удобным путем введения, а также развитие генной терапии позволяют надеяться на значительное улучшение качества жизни пациентов с гемофилией, однако требуют тщательного анализа долгосрочных показателей эффективности и безопасности.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Florinskiy D.B. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4555-9337>

Zharkov P.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4384-6754>

Литература

- Berntorp E., Shapiro A.D. Modern haemophilia care. *Lancet* 2012; 379 (9824): 1447–56. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61139-2
- Ingram G.I. The history of haemophilia. *J Clin Pathol* 1976; 29 (6): 469–79. DOI: 10.1136/jcp.29.6.469
- Mannucci P.M. Hemophilia and related bleeding disorders: a story of dismay and success. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2002; 1–9. DOI: 10.1182/asheducation-2002.1.1
- Rosenberg P.S., Goedert J.J. Estimating the cumulative incidence of HIV infection among persons with haemophilia in the United States of America: *Stat Med* 1998; 17 (2): 155–68. DOI: 10.1002/(sici)1097-0258(19980130)17:2<155::aid-sim758>3.0.co;2-o
- Mannucci P.M. The choice of plasma-derived clotting factor concentrates: *Baillieres Clin Haematol* 1996; 9 (2): 273–90. DOI: 10.1016/S0950-3536(96)80063-1
- Farrugia A., Ironside J.W., Giangrande P. Variant Creutzfeldt-Jakob disease transmission by plasma products: assessing and communicating risk in an era of scientific uncertainty. *Vox Sang* 2005; 89 (4): 186–92. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2005.00702.x
- Blanchette V.S., Shapiro A.D., Liesner R.J., Hernández Navarro F., Warrier I., Schroth P.C., et al. Plasma and albumin-free recombinant factor VIII: pharmacokinetics, efficacy and safety in previously treated pediatric patients. *J Thromb Haemost* 2008; 6 (8): 1319–26. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2008.03032.x
- Shima M., Lillicrap D., Kruse-Jarres R. Alternative therapies for the management of inhibitors. *Haemophilia* 2016; 22 Suppl 5: 36–41. DOI: 10.1111/hae.13005
- Schulte S. Innovative coagulation factors: albumin fusion technology and recombinant single-chain factor VIII. *Thromb Res* 2013; 131 Suppl 2: s2–6. DOI: 10.1016/S0049-3848(13)70150-6
- Swierczewska M., Lee K.C., Lee S. What is the future of PEGylated therapies? *Expert Opin Emerg Drugs* 2015; 20 (4): 531–6. DOI: 10.1517/14728214.2015.1113254
- Wang C., Young G. Clinical use of recombinant factor VIII Fc and recombinant factor IX Fc in patients with haemophilia A and B. *Haemophilia* 2018; 24 (3): 414–9. DOI: 10.1111/hae.13432
- Зозуля Н.И., Кумскова М.А., Полянская Т.Ю., Свиринов П.В. Диагностика и лечение гемофилии: Национальные клинические рекомендации. М.: 2018. [Электронный ресурс]. URL: <http://cr.rosminzdrav.ru/#/recomend/104> (Дата обращения 03.08.2020).
- Collins P.W., Björkman S., Fischer K., Blanchette V., Oh M., Schroth P., 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

14. Van Creveld S. Prophylaxis of joint hemorrhages in hemophilia. *Acta Haemat* 1971; 45 (2): 120–7. DOI: 10.1159/000208615
15. Gringeri A., Lundin B., von Mackensen S., Mantovani L., Mannucci P.M.; ESPRIT Study Group. A randomized clinical trial of prophylaxis in children with hemophilia A (the ESPRIT Study). *J Thromb Haemost* 2011; 9 (4): 700–10. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2011.04214.x
16. Manco-Johnson M.J., Abshire T.C., Shapiro A.D., Riske B., Hacker M.R., Kilcoyne R., et al. Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. *N Engl J Med* 2007; 357: 535–44. DOI: 10.1056/NEJMoa067659
17. Funk M.B., Schmidt H., Becker S., Escuriola C., Klarmann D., Klingebiel T., et al. Modified magnetic resonance imaging score compared with orthopaedic and radiological scores for the evaluation of haemophilic arthropathy. *Haemophilia* 2002; 8 (2): 98–103. DOI: 10.1046/j.1365-2516.2002.00585.x
18. Bolton-Maggs P.H. Optimal haemophilia care versus the reality. *Br J Haematol* 2006; 132 (6): 671–82. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2005.05952.x
19. Mancuso M.E., Berardinelli L. Arteriovenous fistula as stable venous access in children with severe haemophilia. *Haemophilia* 2010; 16 Suppl 1: 25–8. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2009.02158.x
20. McEneny-King A., Chelle P., Henrard S., Hermans C., Iorio A., Edginton A.N. Modeling of Body Weight Metrics for Effective and Cost-Efficient Conventional Factor VIII Dosing in Hemophilia A Prophylaxis. *Pharmaceutics* 2017; 9 (4): 47. DOI: 10.3390/pharmaceutics9040047
21. Witmer C., Young G. Factor VIII inhibitors in hemophilia A: rationale and latest evidence. *Ther Adv Hematol* 2013; 4 (1): 59–72. DOI: 10.1177/2040620712464509
22. Wight J., Paisley S. The Epidemiology of Inhibitors in Haemophilia A: A Systematic Review. *Haemophilia* 2003; 9 (4): 418–35. DOI: 10.1046/j.1365-2516.2003.00780.x
23. Guedes V.G., Corrente J.E., Farrugia A., Thomas S., Wachholz P.A., de Oliveira Vidal E.I. Comparing objective and self-reported measures of adherence in haemophilia. *Haemophilia* 2019; 25 (5): 821–30. DOI: 10.1111/hae.13811
24. Nakar C., Shapiro A. Hemophilia A with inhibitor: Immune tolerance induction (ITI) in the mirror of time. *Transfus Apher Sci* 2019; 58 (5): 578–89. DOI: 10.1016/j.transci.2019.08.008
25. DiMichele D. Inhibitor development in haemophilia B: an orphan disease in need of attention. *Br J Haematol* 2007; 138 (3): 305–15. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2007.06657.x
26. Hay C.R., DiMichele D.M., International Immune Tolerance Study. The principal results of the International Immune Tolerance Study: a randomized dose comparison. *Blood* 2012; 119 (6): 1335–44. DOI: 10.1182/blood-2011-08-369132
27. Mahlangu J., Oldenburg J., Paz-Priel I., Negrier C., Niggli M., Mancuso M.E., et al. Efficacy of prophylaxis in patients who have hemophilia A without inhibitors. *N Engl J Med* 2018; 379 (9): 811–22. DOI: 10.1056/NEJMoa1803550
28. Kitazawa T., Esaki K., Tachibana T., Ishii S., Soeda T., Muto A., et al. Factor VIIIa-mimetic cofactor activity of a bispecific antibody to factors IX/IXa and X/Xa, emicizumab, depends on its ability to bridge the antigens. *Thromb Haemost* 2017; 117 (7): 1348–57. DOI: 10.1160/TH17-01-0030
29. Callaghan M., Negrier C., Paz-Priel I., Chebon S., Lehle M., Mahlangu K., et al. Efficacy of emicizumab treatment is efficacious and well tolerated long term in persons with hemophilia A (PwHA) with or without FVIII inhibitors: Pooled data from four HAVEN studies. *J Thromb Haemost* 2019; 60.2. 2019.
30. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.emicizumabinfo.com/hcp/emicizumab-safety-information.html> (Дата обращения 03.08.2020).
31. [Электронный ресурс]. URL: http://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=a23f61e1-6987-41e7-95c7-869e342df149&t (Дата обращения 03.08.2020).
32. Shapiro A.D., Angchaisuksiri P., Astermark J., Benson G., Castaman G., Chowdary P. et al. Subcutaneous concizumab prophylaxis in hemophilia A and hemophilia A/B with inhibitors: phase 2 trial results. *Blood* 2019; 134 (22): 1973–82. DOI: 10.1182/blood.2019001542
33. [Электронный ресурс]. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=haemophilia&term=&cntry=&state=&city=&dist> (Дата обращения 03.08.2020).
34. Pasi K.J., Rangarajan S., Georgiev P., Mant T., Creagh M.D., Lissitchkov T., et al. Targeting of Antithrombin in Hemophilia A or B with RNAi Therapy. *N Engl J Med* 2017; 377 (9): 819–28. DOI: 10.1056/NEJMoa1616569
35. Machin N., Ragni M.V. An Investigational RNAi Therapeutic Targeting Antithrombin for the Treatment of Hemophilia A and B. *J Blood Med* 2018; 9: 135–40. DOI: 10.2147/JBM.S159297
36. Perrin G.Q., Herzog R.W., Markusic D.M. Update on clinical gene therapy for hemophilia. *Blood* 2019; 133 (5): 407–14. DOI: 10.1182/blood-2018-07-820720
37. Cantore A., Milani M., Annoni A., Liu T., Bartolaccini S., Biffi M., et al. Liver-directed gene therapy for hemophilia B with immune stealth lentiviral vectors [abstract]. *Blood* 2017; 130 (Suppl 1): Abstract 605.
38. Batty P., Lillicrap D. Advances and Challenges for Hemophilia Gene Therapy. *Hum Mol Genet* 2019; 28 (R1): R95–101. DOI: 10.1093/hmg/ddz157

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-139-143

Посттромботический синдром у детей: современное состояние вопроса

М.Ю. Жуков, Н.Н. Митраков, П.А. Жарков

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Посттромботический синдром (ПТС) является одним из значимых осложнений у пациентов, перенесших тромбоз глубоких вен, который заключается в длительно персистирующей, нередко нарастающей хронической венозной недостаточности, способной приводить к стойкому нарушению функции пораженного органа, ткани или конечности. Несмотря на актуальность, проблема диагностики и профилактики ПТС у детей в нашей стране изучена недостаточно.

В данной работе на основании анализа современных опубликованных данных авторы представляют текущее состояние вопроса ПТС в педиатрии.

Ключевые слова: посттромботический синдром, тромбоз, дети, реабилитация, осложнение тромбоза

Жуков М.Ю. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 139–143.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-139-143

Post-thrombotic syndrome in children: current state of affairs

M.Yu. Zhukov, N.N. Mitrakov, P.A. Zharkov

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Post-thrombotic syndrome (PTS) is one of the most significant complications that develops in patients after deep vein thrombosis. Patients with PTS have persistent and often worsening chronic venous insufficiency which can lead to permanent impairment of the affected organ, tissue or limb. Despite their importance, the issues of diagnosis and prevention of PTS in children are understudied in Russia. This paper is based on the analysis of recently published data and presents the current state of affairs regarding PTS in pediatrics.

Key words: post-thrombotic syndrome, thrombosis, children, rehabilitation, complication of thrombosis

Zhukov M.Yu., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 139–143.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-139-143

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 10.02.2020
Принята к печати 30.03.2020

Контактная информация:

Жуков Михаил Юрьевич, врач лечебной физической культуры и спортивной медицины центра медицинской реабилитации консультативного отделения ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: zhukovmihail1594@gmail.com

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 10.02.2020

Accepted 30.03.2020

Correspondence:

Michael Yu. Zhukov, physical therapist and sports medicine physician at the Medical Rehabilitation Unit of the Consultative Department, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation
Address: Russia, 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
E-mail: zhukovmihail1594@gmail.com

Посттромботический синдром (ПТС) – это проявление хронической венозной недостаточности (ХВН) после перенесенного тромбоза глубоких вен (ТГВ). Клиническая картина при ПТС включает в себя отек в месте возникшего тромбоза, локальную болезненность, расширение поверхностных коллатеральных вен и местный дерматит. В тяжелых случаях указанные симптомы влекут за собой нарушение функций пораженной конечности, что значимо ухудшает качество жизни пациента, ограничивая его повседневную социальную и физическую активность [1, 2].

В практике ведения тромбозов у детей существуют значимые отличия от взрослой популяции, заключающиеся в факторах риска, методах оценки ТГВ и ПТС, а также в локализации тромбозов. Стоит отметить, что проблема ПТС в детском возрасте имеет важное социальное и экономическое значение, поскольку длительно не купируемые симптомы могут приводить к инвалидизации пациента, накладывая отпечаток на функциональную активность, что сказывается при переходе в зрелый возраст.

Встречаемость ПТС у взрослых и детей значительно колеблется и составляет 20–81,8% [1–3] и 12–72% [4–10] соответственно. Стоит отметить, что данные по обнаружению ПТС в детском возрасте стали активно появляться в последние десятилетия и с течением времени число пациентов с выявленным ПТС неуклонно растет (таблица 1). На наш взгляд, этому могло способствовать создание стандартизованных шкал по выявлению и оценке ПТС, о которых более подробно будет рассказано ниже.

На данный момент вопросы выявления и лечения ПТС в детском возрасте набирают актуальность. Совершенно очевидно, что помимо физических осложнений в виде постоянного дискомфорта и болевого синдрома, возникновения язв в зависимости от тяжести ПТС существуют и социальные осложнения. Инвалидизирующие факторы течения заболевания в детском возрасте нарушают социализацию пациента в течение жизни. Таким образом, актуальность своевременного выявления, адекватной оценки тяжести и лечения ПТС в детском возрасте не вызывает сомнений.

Таблица 1

Частота встречаемости ПТС у детей, по данным различных исследований 2003–2016 гг.

Table 1

The incidence of post-thrombotic syndrome (PTS) in children, according to the data from different studies carried out in 2003–2016

Автор Author	Год публикации Year of publication	Число пациентов в исследовании Number of patients enrolled in a study	Частота встречаемости ПТС у детей, % Incidence of PTS in children, %
C.H. Van Ommen [4]	2003	33	70
S. Kuhle [2]	2003	153	63
F. Newall [5]	2006	85	12
A.A. Sharath-kumar [6]	2008	55	20
M.L. Avila [7]	2014	158	49,3
R. Kumar [8]	2015	90	72
M.J. Luceri [9]	2015	62	64,5
M.L. Avila [10]	2016	339	47,2

Сосудистая недостаточность как первопричина ПТС является результатом повреждения сосудистой стенки вследствие воспаления, тромбоза вены, расширения ее просвета и ряда других причин, приводящих к нарушению функции венозных клапанов [11] и ухудшению оттока венозной крови.

При возникшем остром ТГВ в проекции тромба происходит процесс реканализации просвета сосуда, который включает в себя фибринолиз, организацию тромба и неоваскуляризацию [12, 13]. Этот процесс характеризуется воспалительным ответом, который помимо собственно лизиса тромба приводит также и к повреждению клапанов и стенок [14]. Наличие резидуального (остаточного) тромба и его недостаточная реканализация являются неблагоприятными факторами, предрасполагающими к развитию ПТС. Имеются данные, позволяющие полагать, что наличие резидуального тромбоза через 6 мес после ТГВ приводит к развитию ПТС [15]. Тромбоз с последующим фибринолизом нарушает структуру клапанного аппарата, что провоцирует нарастание венозной гипертензии [16]. Повышенное давление в системе глубоких вен перераспределяет патологический ток крови в поверхностные вены, стимулируя развитие подкожных венозных коллатералей. Повреждение клапанного аппарата в системе глубоких и поверхностных вен обеспечивает рост гидравлического и гидростатического локального давления, усугубляя венозный застой и нарушая микроциркуляцию. Совокупность этих факторов увеличивает эндотелиальную проницаемость, вследствие чего формируется отек и возникает последующее нарушение оксигенации кожного покрова, предрасполагая к образованию трофических язв (рисунки) [17].

Основные патогенетические аспекты формирования ПТС подтверждены не только на практике, но и в ходе клинических исследований [18]. В литера-

Рисунок

Схема патогенеза развития ПТС

Figure

Pathogenesis of PTS



турном обзоре М. Betensky и N.A. Goldenberg [19] подробно разобраны основные факторы риска, характерные для развития ПТС в детском возрасте (индекс массы тела, сопутствующие заболевания, такие как врожденные пороки сердца, наличие центрального венозного катетера (ЦВК), местоположение тромба, неразрешение или рецидив тромбоза, биомаркеры плазмы/сыворотки крови, включающие коагуляцию, тромбофилию и/или воспалительный ответ (повышенные Д-димер, фактор свертывания VIII, С-реактивный белок), продолжительность антикоагулянтной терапии, использование механического или фармакологического тромболизиса). Показано, что риск появления ПТС связан с увеличением индекса массы тела и характерен для пациентов старшего возраста [8], а пол и наличие порока сердца не являлись основными предикторами для возникновения ПТС [6, 10]. Также было отмечено, что неразрешенные тромбозы верхних конечностей являлись одним из предикторов возникновения ПТС [7], на что особенно стоит обратить внимание в виду наиболее частой локализации ТГВ именно в верхних конечностях.

Наиболее часто встречаемым фактором риска развития ПТС в детском возрасте является ЦВК-ассоциированный тромбоз. В детском возрасте более 50%, а у новорожденных более 90% ТГВ связаны с наличием ЦВК [20]. В проспективном исследовании, включающем 158 детей с диагностированным ТГВ, признаки развития ПТС встречались в 34% случаев и были ассоциированы с окклюзией ЦВК в анамнезе. Оценка качества жизни у данных пациентов произ-

водилась по шкалам Health-Related Quality of Life (HRQoL) и Pediatric Quality of Life Inventory (PedsQL), согласно которым было отмечено снижение уровня показателей качества жизни у всех детей с ПТС [21].

Учитывая, что ПТС является продолжением и осложнением ТГВ, его исходы во многом зависят от проведенного антитромботического лечения/профилактики и достижения стойкой реканализации тромбированных сосудов и вторичного поражения клапанного аппарата в случае ТГВ нижних конечностей. Таким образом, первичная профилактика ПТС, по сути, представляет собой лечение тромбоза и достижение максимальной реканализации. Тем не менее в настоящее время имеется весьма ограниченный арсенал методов, позволяющих радикально и безопасно избавиться от тромбоза [22]. К таким методам можно отнести системную или локальную тромболитическую терапию и хирургическую тромбэктомию/тромбэкстракцию, но все они имеют ряд существенных ограничений по применению, особенно у детей [22]. Кроме того, в последнем случае практически невозможно избежать повреждения клапанного аппарата пораженной вены. Таким образом, в большинстве случаев, особенно при не угрожающих жизни ТГВ, у детей применяется вторичная антитромботическая профилактика препаратами антикоагулянтного действия, направленная не на лизис существующего тромба, а на отсутствие его нарастания [22]. Исходя из вышесказанного, основным методом, препятствующим развитию ПТС у детей, в большинстве случаев является вторичная профилактика нарастания ХВН, а также мероприятия, направленные на улучшение венозного оттока в бассейне пораженной вены. С этой целью могут применяться различные методы: лечение положением, кинезиотерапия, кинезиотейпирование, а также применение градуированной и эластической компрессии.

На данный момент нам не удалось обнаружить крупных исследований, демонстрирующих достоверные данные о положительном влиянии компрессионного трикотажа на течение ПТС в детском возрасте, однако в клиническом случае, опубликованном в 2009 г. T.T. Biss et al., говорится об улучшении функционального состояния 6-летнего ребенка с развившимся ПТС после катетер-ассоциированного ТГВ [23].

Опираясь на опыт использования компрессионного трикотажа среди взрослых, следует обратить внимание на метаанализ S. Azirag и соавт., по результатам которого не было получено достоверных данных, подтверждающих благоприятный эффект ношения компрессионного трикотажа на развитие признаков ХВН [24]. В 2 исследованиях, включенных в метаанализ [25, 26], присутствовали противоречивые данные. Одно исследование продемонстрировало положительный эффект от использования

компрессионных чулок, в то же время другая работа не выявила выраженных преимуществ такого терапевтического подхода по сравнению с контрольной группой.

Тем не менее в настоящее время рекомендуется использование компрессионного трикотажа с контролем антикоагулянтной терапии при возникшем ТГВ для профилактики возникновения ПТС, а также существует возможность применения прерывистой компрессии при уже возникшем ПТС разной степени тяжести в качестве консервативного лечения [27]. Однако при сохранении симптоматики авторы считают консервативную терапию неудавшейся и рекомендуют прибегнуть к хирургическим методам лечения. Тем не менее в настоящее время четкие показания к такому виду лечения не определены.

Использование компрессионного трикотажа имеет ряд ограничений и не может применяться у пациентов с тяжелой периферической нейропатией, декомпенсированной сердечной недостаточностью, артериальной недостаточностью, дерматологическими заболеваниями [28].

Кроме того, стоит обратить внимание, что использование компрессионного трикотажа на нижних конечностях как метода консервативного лечения у пациентов, не способных к вертикализации, стоит под большим вопросом. Отсутствие гравитационного сопротивления не обеспечит полноценную работу мышечно-венозной помпы и компрессионного трикотажа. Также, на наш взгляд, одной из сложностей использования компрессионного трикотажа в детском возрасте является частота локализации ТГВ в сосудах верхних конечностей. В рутинной практике компрессионный трикотаж не применяется для верхних конечностей. И, что очевидно, для этой функции не может быть использован эластичный бинт, поскольку при его применении не представляется возможным гарантировать равномерное распределение компрессии.

Как было сказано ранее, одними из наиболее важных этапов благоприятного исхода ПТС являются своевременное его обнаружение и адекватная оценка тяжести течения. Общеизвестными шкалами для оценки тяжести ПТС у детей являются метод Манко-Джонсона (таблица 2) [29], адаптированный из классификации для хронических венозных заболеваний у взрослых, CEAP [30] и модифицированная шкала Виллалта (таблица 3) [31].

Доказано, что и модифицированная шкала Виллалта, и инструмент Манко-Джонсона имеют ограничения [29]. Одними из основных недостатков этих инструментов являются отсутствие четкой оценки симптомов в детском возрасте и сложность описания субъективных ощущений при ПТС, не говоря о том, что в ряде случаев симптомы, возникающие у

Таблица 2
Оценочная шкала тяжести течения ПТС Манко-Джонсона

Table 2
PTS severity scale (Manco-Johnson instrument)

Признак Sign	Оценка или степень нарушения Score or grade of impairment
Отек Edema	0/1
Увеличенные коллатеральные вены Dilated collateral veins	0/1
Венозный дерматит Venous dermatitis	0/1
Венозные язвы Venous ulcers	0/1
Симптомы Symptoms	
Хроническая боль в нижних конечностях: Lower-extremity chronic pain: -ограничение активности при выполнении физических упражнений - limiting aerobic activities - ограничение активности в повседневной жизни - limiting activities of daily living	0–5
- в покое - at rest	0–5
ПТС отсутствует PTS absent	0
Наличие симптомов ПТС PTS present	≤ 1

					
0	1	2	3	4	5
Не болит No hurt	Немного болит Hurts little bit	Болит сильнее Hurts little more	Болит значительно сильнее Hurts even more	Очень болит Hurts whole lot	Болит нестерпимо Hurts worst

детей, не могут быть описаны ребенком в силу его возраста. В результате при использовании данных методов в рутинной практике возникает вопрос о достоверности и полноте оценки тяжести течения ПТС и, как следствие, о сложности адекватной оценки динамики тяжести течения ПТС.

Необходимость дальнейшего совершенствования шкал оценки ПТС была подтверждена ведущими международными сообществами, в том числе Международным обществом по тромбозу и гемостазу (International Society on Thrombosis and Haemostasis, ISTH) [29].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ПТС является важной и актуальной проблемой в педиатрии. Учитывая, что ХВН усугубляется с течением времени, можно предположить, что ПТС в детском возрасте угрожает инвалидизацией пациентов во взрослом возрасте. К сожалению, в нашей стране до сих пор отсутствуют сведения о частоте встречаемости ПТС у детей, динамическая характеристика выраженности симптомов ХВН у таких пациентов остается нерешенной задачей, а методы

Таблица 3
Модифицированная шкала Виллалта

Table 3
Modified Villalta scale

Параметр Parameter	Значение Score
Симптомы Symptoms	
Боль Pain	1 балл при наличии 1 point if present
Отечность Swelling	1 балл при наличии 1 point if present
Признаки Signs	
Изменение цвета кожи Change in skin colour	1 балл при наличии 1 point if present
Увеличение объема конечности Increased limb circumference	1 балл при наличии 1 point if present
Пастозность Pitting edema	1 балл при наличии 1 point if present
Видимые поверхностные коллатерали вен Visible superficial collateral veins	1 балл при наличии 1 point if present
Гиперпигментация Hyperpigmentation	1 балл при наличии 1 point if present
Болезненность при пальпации Pain on palpation	1 балл при наличии 1 point if present
Отеки Edemas	0–2 балла 0–2 points
Расширение вен Dilated veins	0–2 балла 0–2 points
Язва Ulceration	9 баллов 9 points
Классификация ПТС PTS: classification	
Отсутствует Absent	0 баллов 0 points
Легкая степень Mild	1–3 балла 1–3 points
Средняя степень Moderate	4–8 балла 4–8 points
Тяжелая степень Severe	> 8 баллов > 8 points

коррекции данного состояния системно не применяются. Все это диктует необходимость проведения дальнейших исследований, посвященных распространенности и степени тяжести ПТС у детей с перенесенным ТГВ с последующим формированием терапевтических и диагностических протоколов, направленных на динамическую оценку, а также повышение качества реабилитации пациентов с ТГВ. Данный комплекс мероприятий позволит снизить число пациентов с тяжелым течением ПТС, препятствуя их инвалидизации и повышая качество адаптации в дальнейшей жизни.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Zhukov M.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3259-8935>

Mitrakov N.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3868-0510>

Zharkov P.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4384-6754>

Литература

- Kommareddy A., Zaroukian M.H., Has-souna H.I. Upper extremity deep venous thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2002; 28 (1): 89–99. DOI: 10.1055/s-2002-20567
- Kuhle S., Koloshuk B., Marzinotto V., Bauman M., Massicotte P., Andrew M., et al. A cross-sectional study evaluating post-thrombotic syndrome in children. *Thromb Res* 2003; 111 (4–5): 227–33. DOI: 10.1016/j.thromres.2003.09.008
- Monagle P., Adams M., Mahoney M., Ali K., Barnard D., Bernstein M., et al. Outcome of pediatric thromboembolic disease: a report from the Canadian Childhood Thrombophilia Registry. *Pediatr Res* 2000; 47 (6): 763–6. DOI: 10.1203/00006450-200006000-00013
- Van Ommen C.H., Heijboer H., Van den Dool E.J., Hutten B.A., Peters M. Pediatric venous thromboembolic disease in one single center: congenital prothrombotic disorders and the clinical outcome. *J Thromb Haemost* 2003; 1 (12): 2516–22. DOI: 10.1046/j.1538-7836.2003.00465.x
- Newall F., Wallace T., Crock C., Campbell J., Savoia H., Barnes C., et al. Venous thromboembolic disease: a single centre case series study. *J Paediatr Child Health*, 2006; 42 (12): 803–7. DOI: 10.1111/j.1440-1754.2006.00981.x
- Sharathkumar A.A., Pipe S.W. Post-thrombotic syndrome in children: a single center experience. *J Pediatr Hematol Oncol* 2008; 30 (4): 261–6. DOI: 10.1097/MPH.0b013e318162bcf5
- Avila M.L., Duan L., Cipolla A., Kim A., Kahr W.H.A., Brandão L.R., et al. Post-thrombotic syndrome following upper extremity deep vein thrombosis in children. *Blood* 2014; 124 (7): 1166–73. DOI: 10.1182/blood-2014-04-570531
- Kumar R., Rodriguez V., Matsumoto J.M., Khan S.P., Weaver A.L., McBane R.D., et al. Prevalence and risk factors for post thrombotic syndrome after deep vein thrombosis in children: a cohort study. *Thromb Res* 2015; 135 (2): 347–51. DOI: 10.1016/j.thromres.2014.12.005
- Avila M.L., Pullenayegum E., Williams S., Yue N., Krol P., Brandão L.R. Postthrombotic syndrome and other outcomes of lower extremity deep vein thrombosis in children. *Blood* 2016; 128 (14): 1862–9. DOI: 10.1182/blood-2016-03-704585
- Luceri M.J., Tala J.A., Weismann C.G., Silva C.T., Faustino E.V. Prevalence of post-thrombotic syndrome after cardiac catheterization. *Pediatr Blood Cancer* 2015; 62 (7): 1222–7. DOI: 10.1002/pbc.25438
- Johnson B.F., Manzo R.A., Bergelin R.O., Strandness D.E. Jr. Relationship between changes in deep venous system and the development of the postthrombotic syndrome after an acute episode of lower limb vein thrombosis: a one-to-six year follow up. *J Vasc Surg* 1995; 21 (2): 307–12. DOI: 10.1016/s0741-5214(95)70271-7
- Meissner M.H., Zierler B.K., Bergelin R.O., Chandler W.L., Strandness D.E., Mei M.H. Coagulation, fibrinolysis, and recanalization after acute deep venous thrombosis. *J Vasc Surg* 2002; 35 (2): 278–85. DOI: 10.1067/mva.2002.121066
- Хрыщанович В.Я. Посттромботическая болезнь: диагностика, лечение, профилактика. УО «Белорусский государственный медицинский университет» Минск; 2013.
- Wakefield T.W., Henke P.K. The role of inflammation in early and late venous thrombosis: are there clinical implications? *Semin Vasc Surg* 2005; 18 (3): 118–29. DOI: 10.1053/j.semvasc-surg.2005.05.003
- Prandoni P., Kahn S.R. Post-thrombotic syndrome: prevalence, prognosis, and need for progress. *Br J Haematol* 2009; 145 (3): 286–95. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07601.x
- Raffini L., Huang Y.-S., Witmer C., Feudtner C. Dramatic increase in venous thromboembolism in children's hospitals in the United States from 2001 to 2007. *Pediatrics* 2009; 124 (4): 1001–8. DOI: 10.1542/peds.2009-0768
- Roumen-Klappe E.M., Janssen M.C.H., Van Rossum J., Holeywijn S., Van Bokhoven M.M.J.A., Kaasjager K., et al. Inflammation in deep vein thrombosis and the development of post-thrombotic syndrome: a prospective study. *J Thromb Haemost* 2009; 7 (4): 582–7. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03286.x
- Roumen-Klappe E.M., den Heijer M., Janssen M.C.H., van der Vleuten C., Thien T., Wollersheim H. The post-thrombotic syndrome: incidence and prognostic value of non-invasive venous examinations in a six-year follow-up study. *Thromb Haemost* 2005; 94 (4): 825–30. DOI: 10.1160/TH05-03-0146
- Betensky M., Goldenberg N.A. Post-thrombotic syndrome in children. *Thromb Res* 2018; 164: 129–35. DOI: 10.1016/j.thromres.2017.07.024
- Vu L.T., Nobuhara K.K., Lee H., Farmer D.L. Determination of risk factors for deep venous thrombosis in hospitalized children. *J Pediatr Surg* 2008; 43 (6): 1095–9. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2008.02.036
- Polen E., Weintraub M., Stoffer C., Jaffe D.H., Burger A., Revel-Vilk S. Post-thrombotic syndrome after central venous catheter removal in childhood cancer survivors: A prospective cohort study. *Pediatr Blood Cancer* 2015; 62 (2): 285–90. DOI: 10.1002/pbc.25302
- Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбозов и тромбоэмболий (ВТЭО). *Флебология* 2015; 9 (4 выпуск 2).
- Biss T.T., Kahr W.H., Brandão L.R., Chan A.K., Thomas K.E., Williams S. The use of elastic compression stockings for post-thrombotic syndrome in a child. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 53 (3): 462–3. DOI: 10.1002/pbc.22077
- Azirar S., Appelen D., Prins M.H., Neumann M.H., de Feiter A.N., Kolbach D.N. Compression therapy for treating post-thrombotic syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2019; 18 (9): CD004177. DOI: 10.1002/14651858.CD004177.pub2
- Lattimer C.R., Azzam M., Kalodiki E., Makris G.C., Geroulakos G. Compression stockings significantly improve hemodynamic performance in post-thrombotic syndrome irrespective of class or length. *J Vasc Sur* 2013; 58 (1): 158–65. DOI: 10.1016/j.jvs.2013.01.003
- Ginsberg J.S., Hirsh J., Julian J., Vander LaandeVries M., Magier D., MacKinnon B., et al. Prevention and treatment of post-phlebotic syndrome: results of a 3-part study. *Arch Int Med* 2001; 161 (17): 2105–9. DOI: 10.1001/archinte.161.17.2105
- Schleimer K., Barbat M.E., Gombert A., Wienert V., Grommes J., Jalaie H. Treatment of Post-Thrombotic Syndrome. *Dtsch Arztebl Int* 2016; 113 (50): 863–70. DOI: 10.3238/arztebl.2016.0863
- Hillegass E., Puthoff M., Frese E.M., Thigpen M., Sobush D.C., Auten B.; Guideline Development Group. Role of Physical Therapists in the Management of Individuals at Risk for or Diagnosed With Venous Thromboembolism: Evidence-Based Clinical Practice Guideline. *Physical Therapy* 2016; 96 (2): 143–66. DOI: 10.2522/ptj.20150264
- Avila M.L., Feldman B.M., Pullenayegum E., Lumia C., Montoya M.I., Vincelli J., et al. Post-thrombotic syndrome in children: Measurement properties of CAPT-Sure, a new diagnostic tool. *Res Pract Thromb Haemost* 2019; 3 (4): 652–57. DOI: 10.1002/rth2.12251
- Eklof B., Rutherford R.B., Bergan J.J., Carpenter P.H., Gloviczki P., Kistner R.L., et al. Revision of the CEAP classification for chronic venous disorders: consensus statement. *J Vasc Surg* 2004; 40 (6): 1248–52. DOI: 10.1016/j.jvs.2004.09.027
- Kahn S.R. Measurement properties of the Villalta scale to define and classify the severity of the post-thrombotic syndrome. *J Thromb Haemost* 2009; 7 (5): 884–8. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03339.x

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 19.03.2020
Принята к печати 08.05.2020

Контактная информация:
Шибeko Алексей Михайлович,
канд. биол. наук, ведущий научный
сотрудник лаборатории биофизики
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия
Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: alshibeko@gmail.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-144-150

Современные направления в исследованиях свертывания крови

А.М. Шибeko, А.Н. Баландина, Н.А. Подоплелова, М.А. Пантелеев

ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН, Москва
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммуноло-
гии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Свертывание крови происходит в условиях ее тока и стазиса, оно задействует компоненты клеточного гемостаза и ферментативные каскады реакций, служит для остановки кровотечений и может приводить к возникновению угрожающих жизни тромбов. Несмотря на то, что полный список белков свертывания сформировался несколько десятилетий назад, за последние годы накопилась многочисленная новая информация о его устройстве и регуляции, что привело к созданию новых методов диагностики его нарушений и способов их коррекции. Врожденные и приобретенные нарушения свертывания крови до сих пор остаются острой клинической проблемой. В данном обзоре показаны современные представления об устройстве и функционировании системы свертывания крови в различных условиях.

Ключевые слова: свертывание крови, регуляция свертывания, фибринолиз

Шибeko А.М. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 144–150.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-144-150

Current trends in blood coagulation studies

A.M. Shibeko, A.N. Balandina, N.A. Podoplelova, M.A. Panteleev

Center for Theoretical Problems of Physical and Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow
Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian
Federation, Moscow

Blood coagulation occurs in flow or stasis conditions, it involves components of cell hemostasis and enzymatic cascades of reactions; it serves to stop bleeding yet it can lead to life-threatening blood thrombi. Despite the fact that a complete list of coagulation proteins was well known for decades, in recent years numerous facts has accumulated about its structure and regulation. All that has led to the creation of new methods for diagnosing of blood coagulation disorders and methods for their correction. Congenital and acquired coagulation disorders are still an acute clinical problem. This review shows modern ideas about the structure and functioning of the blood coagulation system in various conditions.

Key words: blood coagulation, regulation of coagulation, fibrinolysis

Shibeko A.M., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 144–150.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-144-150

© 2020 by «D. Rogachev NMCPHOI»

Received 19.03.2020

Accepted 08.05.2020

Correspondence:
Alexey M. Shibeko, PhD,
leading researcher, laboratory
of biophysics, Dmitry Rogachev National
Medical Research Center of Pediatric
Hematology, Oncology and Immunology,
Ministry of Healthcare
of Russian Federation
Address: Russia, 117997, Moscow,
Samory Mashela st., 1
E-mail: alshibeko@gmail.com

Система свертывания крови – конгломерат специализированных клеток и особых молекул, объединенных каскадом ферментативных реакций, обладает множеством функций: от самой прямой и очевидной – остановки кровотечения при повреждении сосудистого русла – до регуляции множества сопутствующих процессов: запуска фибринолиза, инициации иммунного ответа, начала восстановления повреждения [1]. При этом наблюдается не четкая иерархичность этих процессов (А запускает Б, который запускает В и Г), а взаиморегуляция, когда в одной огромной схеме реакций можно выделить блоки, отвечающие за тот или иной процесс, но часть управляющих команд приходит из соседних блоков и уходит в них [2]. Сложность системы свертывания крови дополняется тем, что в разных физических условиях разные реакции становятся «бутылочным горлышком», регулирующим гемостатический ответ. Поэтому изучение системы свертывания крови – это всегда путь компромисса, поиска области реакций, ограниченных исследуемыми условиями. Это приводит к ряду последствий. Так, до сих пор в свертывании находят новые реакции,

проявляющиеся в определенных экспериментальных условиях (при наличии потока, в пространственно-неоднородных системах, в присутствии особых внешних активаторов). Взаимопроникновение систем свертывания крови, комплемента и иммунитета обеспечивает постоянный поток новых данных о функционировании и регуляции каждой из них [3, 4].

Данный обзор демонстрирует читателю, что исследования свертывания крови продолжаются до сих пор, многие парадигмы XX века пересматриваются, а общая картина происходящего становится все более детализированной и понятной для выявления нарушений и подбора способов их коррекции. Мы отдельно рассмотрим различные типы механизмов регуляции свертывания крови, связанные с эндогенными участниками; с экзогенными веществами, усиливающими или ослабляющими определенные биохимические реакции; с пространственным распределением протекания различных реакций, приводящим к значимости транспорта активных форм из одной области протекания свертывания в другую.

Физиология и патология свертывания крови

Устройство системы свертывания крови таково, что позволяет гемостазу протекать в широком диапазоне условий: в малых и крупных сосудах, артериях и венах, при незначительных повреждениях и полном разрыве. Для этого задействуются 3 компонента этой системы: вазоконстрикция (сужение сосудов рядом с местом повреждения), уменьшающая локальный кровоток, тромбоцитарное свертывание, за несколько секунд создающее рыхлую затычку на месте повреждения, и плазменное свертывание, за несколько минут цементирующее тромбоцитарный сгусток плотной фибриновой сетью. В зависимости от условий вклад этих компонентов гемостаза в каждом конкретном случае может быть разным [5].

Патологии системы свертывания крови приводят к кровотечениям или тромбозам. Дефицит факторов свертывания, возникший из-за генетических дефектов или истощения факторов вследствие ранее протекающего тромбообразования, приводит к ухудшению процесса образования сгустка и увеличивает риск развития кровотечений [6].

Так как кровоточивость связана с отсутствием или недостатком нужных элементов в системе, то это состояние просто диагностировать, а лечение состоит в восполнении отсутствующего компонента или имитации его функции. Иначе дело обстоит с тромбозом. К тромбозу приводит не избыточное содержание какого-либо компонента системы, а ее комплексные изменения на нескольких уровнях: для развития тромбоза необходимо одновременное наличие прокоагулянтных изменений в составе крови (дефицит ингибиторов, прокоагулянтные мутации факторов свертывания, антифосфолипидные антитела, повышенный уровень липидных везикул в крови, наличие активных факторов, активация иммунного ответа, приводящая к формированию внеклеточных нейтрофильных ловушек (neutrophil extracellular traps, NETs) и др.), а также патологического активирующего сигнала (системы комплемента и иммунитета активируют эндотелий и тромбоциты, атеросклеротические бляшки приводят к изменениям кровотока, вызывают активацию тромбоцитов и системы свертывания, а также активируют эндотелий) [1]. Этим же объясняются сложности диагностики и терапии тромбоза.

Традиционно выделяют 2 типа тромбозов: венозный и артериальный. Венозный тромбоз возникает при нарушениях кровотока, общем гиперкоагуляционном состоянии, дефиците ингибиторов свертывания (антипротромбина, протеина С, протеина S), повышенной активности факторов свертывания (фактор V Лейден, мутация протромбина G20210A), антифосфолипидном синдроме, аномалиях фибринолитической системы. Артериальный тромбоз

ассоциируется с воспалительными процессами, образованием атеросклеротических бляшек, повышенным уровнем липидов. Отдельно стоит выделить комплексные нарушения свертывания, такие как диссеминированное внутрисосудистое свертывание, вызываемые системным поражением сосудов или активацией свертывания (например, вследствие инфекции) и характеризующиеся как тромбозами, так и кровоточивостью (вследствие истощения факторов свертывания и тромбоцитов) [1].

Биохимическая регуляция системы свертывания крови

Система свертывания крови. Основа свертывания крови – каскад реакций, в которых участвуют факторы свертывания. Эти факторы свертывания делятся на группу сериновых протеаз и группу кофакторов. Сериновые протеазы катализируют гидролиз пептидной связи в участке, закрывающем активный сайт субстрата, после чего продукт этой реакции сам приобретает способность к катализу. Кофакторы образуют комплексы с активными протеазами и увеличивают скорость катализа на несколько порядков [7].

Физиологическая функция свертывания крови – остановка кровотечения (гемостаз) – запускается тканевым фактором (ТФ), мембранным гликопротеином, экспонированным на субэндотелии, который обнажается при повреждении сосуда. ТФ образует комплекс с циркулирующей в крови активной формой фактора VII. Этот комплекс, внешняя тенеза, активирует факторы IX и X (эта часть реакций, приводящая к запуску свертывания, называется внешним путем). Фактор Xa активирует протромбин, и они вместе активируют кофакторы V и VIII, которые на фосфолипидной поверхности собираются в комплексы VIIIaXa – внутреннюю тенезу и XaVa – протромбиназу, обеспечивая возрастание ферментативной активности свободных факторов на 2–3 порядка (эта часть реакций, обеспечивающая производство тромбина, называется общим путем). Эти комплексы активируют соответственно фактор X и протромбин. Получившийся в результате тромбин активирует фибриноген, который полимеризуется с образованием фибринового сгустка [8]. Для работы большинства упомянутых ферментативных комплексов необходимо наличие отрицательно заряженных фосфолипидных мембран. В организме источником таких мембран, по-видимому, выступают активированные тромбоциты, микровезикулы и липопротеины плазмы крови [9].

Тромбоцитарный гемостаз. Вторым процессом, который приводит к запечатыванию раны, является агрегация тромбоцитов. В отсутствие повреж-

дений тромбоциты не способны прикрепляться к стенке сосудов и образовывать агрегаты. Однако при повреждении эндотелия сосуда происходит обнажение волокон коллагена, что приводит к активации тромбоцитов, в результате чего они приобретают способность к агрегации, которая осуществляется специализированными мембранными гликопротеинами интегринами через белки-посредники. Кроме того, в результате активации происходят изменение формы, секреция гранул, сборка комплексов рецепторов, а также часть тромбоцитов может выставить фосфатидилсерин на внешний слой мембраны. Именно такие фосфатидилсерин-положительные клетки выступают в роли источника мембраны для сборки ферментативных комплексов. Хотя в литературе часто разделяют плазменный и тромбоцитарный гемостазы, в реальных условиях оба эти звена работают вместе. Как было отмечено выше – тромбоциты активно участвуют в сборке ферментативных комплексов. В свою очередь, тромбин, образующийся в результате активации плазменного звена, является активатором тромбоцитов. В зависимости от условий, в которых образуется тромб, будет меняться соотношение вкладов плазменного и тромбоцитарного звеньев.

Патологические механизмы тромбообразования.

При патологическом тромбообразовании активирующим сигналом может выступать не только ТФ, но и фактор фон Виллебранда, который активируется высокими сдвиговыми скоростями в артериях, при наличии бляшек, из-за стазиса при фибрилляции предсердий или при недостаточности венозных клапанов. В результате патологическое тромбообразование может быть связано со стазисом (венозный тромбоз, фибрилляция предсердий), который приводит к запуску плазменного свертывания через внутренний путь [10], или, наоборот, с очень высокими локальными сдвиговыми скоростями (из-за сужения просвета сосуда), которые приводят к запуску тромбоцитарного звена гемостаза.

Механизмы, приводящие к патологическому свертыванию (тромбозу), часто вызывают активацию свертывания другими способами. Один из них – внутренний путь, когда на отрицательно заряженной поверхности активируется фактор XII, который активирует фактор XI, что приводит к активации фактора IX, а дальше реакции идут, как во внешнем пути. Такой поверхностью могут быть бактериальные стенки (липополисахариды на них) [11] или инородные тела в крови.

Другой механизм активации патологического свертывания связан с реакциями иммунной системы. В ответ на воспаление нейтрофилы мигрируют из крови в инфицированные ткани, где они эффективно

связывают, поглощают и инактивируют бактерии. Нейтрофилы также дегранулируют, создавая внеклеточные волокна или NETs [12], представляющие собой деконденсированные нити хроматина (ДНК и гистонов) с различными гранулярными белками на поверхности. Эти нити создают фиброзные сетки, обладающие антибактериальными [12], антигрибковыми [13] и противовирусными [14] свойствами. Помимо того, что NETs улавливают патогены, они способны связывать эритроциты и тромбоциты [15], вызывая тромбоз. Один из механизмов связан с тем, что на их поверхности находятся миелопероксидаза и нейтрофильная эластаза, которые инактивируют ингибитор пути ТФ [16] и тромбомодулин [17], что приводит к повышенной прокоагулянтной активности. На NETs были обнаружены ТФ и активный фактор XIIa [18]. Гистоны, находящиеся на поверхности NETs, приводят к активации эндотелия, что вместе со стенозом ускоряет тромбообразование [19].

Необходимо отметить, что само по себе свертывание крови, не относящееся к гемостазу, выполняет также физиологические функции (локализация бактерий, стимуляция иммунной системы и комплемента), но цена нарушений в работе систем образования или растворения сгустка в данном случае будет куда выше, чем в случае гемостаза – препятствие нормальному кровотоку, поэтому отключение этих реакций ценой утраты части физиологических функций, второстепенных и дублирующих функции других систем, может быть оправдано с позиции общей выгоды для организма.

Фибринолиз. Одновременно с инициацией свертывания крови запускается процесс фибринолиза – разрушение сгустка крови. Если характерное время появления тромбоцитарного сгустка – десятки секунд, фибриновой сетки, в которой он прорастает и стабилизируется, – единицы-десятки минут, то растворение фибрина происходит за десятки часов. Во время этого процесса тканевый (ТПА) и урокиназный (УПА) активаторы плазминогена активируют его до плазмина, который разрезает фибрин. Одним из основных регуляторов фибринолиза является тромбин – белок, который непосредственного участия в реакциях растворения сгустка не принимает. С одной стороны, тромбин дозозависимым образом стимулирует выход ТПА из эндотелия [20], тем самым усиливая активирующий лизис сигнал. С другой стороны, высокие концентрации тромбина приводят к появлению более плотного сгустка, устойчивого к лизису. Также тромбин активирует фактор XIII, который сшивает фибриновый сгусток, что затрудняет его растворение. Помимо этого, тромбин в комплексе с тромбомодулином стимулирует тромбин-активируемый ингибитор фибринолиза (ТАФИ),

который отрезает с молекул фибрина С-концевые лизины, за которые на его поверхность садятся плазмин(оген) и ТПА, тем самым также понижая эффективность фибринолиза.

Кроме того, тромбин активирует тромбоциты, которые могут обладать как антифибринолитическими, так и профибринолитическими свойствами. Так, в процессе активации происходит секреция фактора XIII, который, как было сказано выше, меняет структуру фибринового сгустка и тем самым затрудняет его лизис. Также из альфа-гранул тромбоцитов секретируется ингибитор активатора плазминогена (ПАИ-1), который обладает антифибринолитическим действием. В альфа-гранулах тромбоцитов содержится более 90% общего количества ПАИ-1 в крови [21], однако около половины находится в неактивной форме [22].

Под действием активаторов, например тромбина, тромбоциты способны к перестройке цитоскелета, приводящей к контракции, т. е. сокращению объема [23] и вытеснению сыворотки крови из сгустка [24, 25]. За счет изменений в актин-миозиновом цитоскелете [26] сократительные (контрактивные) силы передаются через активные интегрины $\alpha\text{IIb}\beta 3$ [27] с тромбоцитов на фибриновые волокна [28], превращая тем самым диффузную фибриновую сеть в маленький и плотный тромбоцитарно-фибриновый сгусток [29]. Контракция также изменяет структуру фибриновой сети и снижает проницаемость сгустка [30, 31]. Это приводит к образованию плотной фибриновой сети, которая устойчива к фибринолизу. Контракция сгустка в 2 раза ускоряет внутренний фибринолиз, который происходит под действием активаторов плазминогена, находящихся внутри сгустка. Одновременно с этим в 4 раза замедляется внешний фибринолиз, происходящий под действием активаторов плазминогена, находящихся вне сгустка [32]. Контракция, с одной стороны, ухудшает фибринолиз, но, с другой стороны, способна уменьшить окклюзию сосудов и улучшить кровоток за пределами тромба.

Связь свертывания крови с системой комплемента. Запуск свертывания крови в организме может приводить к активации системы комплемента. Факторы свертывания Ха, XIa, плазмин и тромбин могут активировать анафилотоксины C3 и C5 [33]. Фактор XIIa, помимо того, что запускает внутренний путь свертывания через контактную активацию, также активирует C1q, запуская классический путь комплемента. Ингибитор C1 не только участвует в регуляции всех 3 путей комплемента, но и ингибирует контактный путь свертывания через взаимодействие с калликреином и фактором XIIa [34]. Функционирующий комплемент, в свою очередь, запускает свертывание крови: C3a и C5a способны индуцировать

экспонирование ТФ на поверхности эндотелиальных клеток [35, 36], а также переключать тучные клетки из профибринолитического состояния (выброс ТПА) в протромботическое (выброс ПАИ-1) [37]. Также C3a и C5a активируют тромбоциты, приводя к их агрегации [38] и экспонированию Р-селектина, который является рецептором C3b и местом сборки альтернативной C3-конвертазы [39].

Связь свертывания крови с иммунитетом.

Помимо системы комплемента свертывание крови связано и с иммунитетом. Внешняя теназа и фактор Ха могут активировать рецепторы, активируемые протеазами (PAR): PAR2 [40], тромбин активирует PAR1, PAR3 и PAR4, которые модулируют врожденные иммунные реакции, взаимодействуя с толлоподобными рецепторами [41, 42]. Тромбоциты переносят бактерии в CD8-положительные дендритные клетки селезенки, что необходимо для запуска адаптивного антибактериального иммунитета [43]. Кроме того, недавно было показано, что тромбоциты координируют возвращение CD8-положительных эффекторных Т-клеток в печень при вирусном гепатите [44]. Иммунный ответ приводит к запуску свертывания крови: лейкоциты усиливают свертывание, экспрессируя ТФ [45] и производя микровезикулы, а нейтрофилы выпускают NETs.

Роль эндотелия в системе свертывания крови.

Роль эндотелия в свертывании крови, с одной стороны, несомненна (и входит в триаду Вирхова 1856 г.), но, с другой стороны, до сих пор изучена хуже всего из-за проблем с построением экспериментальных моделей: если для изучения плазменного свертывания нужна лишь плазма крови, то для тромбоцитарного свертывания нужен еще и поток, а для изучения роли эндотелия в общем случае нужно воспроизвести сосуд с током крови. Поэтому исследуются отдельные компоненты вклада эндотелия в свертывание крови, и результаты зачастую бывают противоречивыми. Так, ряд работ показывает, что активированный эндотелий способен экспрессировать ТФ [46–48], однако в животных моделях это может как наблюдаться [49], так и не наблюдаться [50].

Однако есть общепризнанные свойства эндотелия, такие как наличие на нем тромбомодулина [51], в комплексе с которым тромбин теряет прокоагулянтную активность, зато становится способным активировать протеин С (ингибитор факторов VIIIa и Va в теназе и протромбиназе) и ТАФИ (ингибитор фибринолиза); ингибитор пути ТФ [52], ингибирующего внешний ТФ-зависимый путь активации свертывания; в эндотелии экспрессируются ТПА, активатор фибринолиза, чей выход из эндотелия управляется

тромбином [20] и ADAMTS13 (дезинтегрин и металлопротеиназа с тромбоспондиновым доменом-13) [53], металлопротеиназа, разрезающая фактор фон Виллебранда, который обеспечивает адгезию тромбоцитов к месту повреждения и друг к другу, в нем же синтезируется фактор VIII [54, 55].

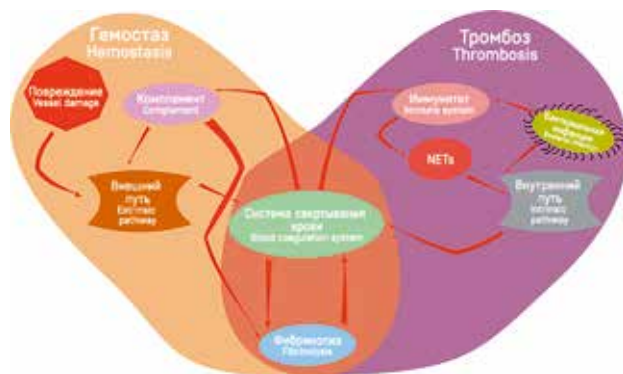
Огромное количество регуляторных реакций из различных областей системы гемостаза и примыкающих к ней частей систем комплемента и иммунитета делает анализ ее дисфункций и поиска методов их коррекции чрезвычайно непростым делом, что мы схематично представили на *рисунке*. Более того, до сих пор открываются новые регуляторные блоки и места взаимодействия этих систем.

Рисунок

Взаимная регуляция внутренних систем организма: свертывания крови, комплемента, иммунитета

Figure

Mutual regulation of the systems of blood coagulation, complement, and immunity



Регуляция системы свертывания крови транспортными процессами

Знания об устройстве и функционировании системы свертывания крови мы черпаем из научных исследований, которые традиционно проводятся в стандартной биохимической постановке – в пробирке в условиях полного и тщательного перемешивания. При этом зачастую не принимается во внимание, что в организме места протекания реакций системы свертывания крови разнесены в пространстве: ТФ-зависимая активация свертывания локализована на поверхностях, содержащих ТФ, активация протеина С и ТАФИ происходит на поверхности эндотелиальных клеток, покрытых тромбомодулином. Это приводит к тому, что свертывание происходит не одновременно во всем объеме плазмы крови, а распространяется в виде бегущего фронта из области активации. Наличие неоднородностей, в данном случае – локализации активатора свертывания и части ингибиторов, вводит в игру транспортные процессы – перенос активных форм участников свертывания из области активации в соседние регионы.

Так как запуск свертывания и распространение фибринового сгустка в пространстве регулируются

разными реакциями, нарушение в одном из этих процессов может быть необнаружимо в условиях перемешивания. В качестве примера можно привести гемофилию (отсутствие фактора VIII или IX). В этом случае запуск свертывания происходит так же, как в норме. В случае сильной активации свертывания отличить норму от гемофилии практически невозможно [56], так как реакции происходят на ТФ, равномерно распределенном по всему объему. По мере уменьшения концентрации ТФ вклад этих реакций в свертывание снижается, и разница между нормой и гемофилией становится все более заметной. Совсем другую картину можно наблюдать, если ТФ локализован в пространстве и мы наблюдаем непосредственно распространение фибринового сгустка [57]. В данном случае при гемофилии рост сгустка прекращается на некотором удалении от поверхности с ТФ, так как в плазме отсутствует комплекс внутренней теназы (IXa:VIIIa), который активирует фактор Ха, необходимый для активации тромбина. Весь фактор Ха в данном случае производится только внешней теназой (VIIa:ТФ), и распространение сгустка ограничено диффузией фактора Ха в пространстве. В норме внутренняя теназа производит фактор Ха в объеме, что приводит к неограниченному росту сгустка.

Наличие тока крови может регулировать запуск свертывания пороговым образом (по принципу «все или ничего») за счет сочетания положительной обратной связи активации ТФ-связанного фактора VII активированным фактором X и эффективного удаления фактора Ха потоком из области активации [58], в то время как в отсутствие потока эта реакция не влияет на запуск свертывания.

Исследования пространственной динамики роста фибринового сгустка начались еще несколько десятков лет назад [59], а несколько лет назад было показано, что при определенных условиях схожая картина наблюдается при лизисе сгустка [60]. При наличии в плазме крови высоких концентраций активаторов плазминогена за фронтом полимеризации фибрина следует фронт лизиса, причем скорость второго фронта линейно зависит от скорости первого, а сами скорости не зависят от активирующего сигнала (концентрации ТФ в области активации). Это позволяет рассматривать плазму крови как активную среду, в которой существуют волны переключения между жидким и гелеобразным состоянием.

Исследование функционирования системы свертывания крови, ее работы в норме и патологии – все это сводится в конечном счете к анализу реакций, описывающих изменение концентраций ферментов, участвующих в образовании тромба. Эти изменения связаны с потоками вещества, из которых биохимический поток, описывающий активацию, ингиби-

рование, образование комплексов, является лишь одним из нескольких. Перенос вещества диффузией и потоком, ранее игнорируемый в исследованиях, существенным образом меняет картину свертывания крови, приближая ее к условиям, наблюдаемым в организме.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фундаментальные исследования последних лет показали, что биохимическая регуляция системы свертывания крови дополняется транспортными процессами, связанными с неоднородностью распределения факторов свертывания. Появляется все больше информации о взаимодействии свертывания крови с другими близкими системами: компле-

ментом, иммунной системой. Это позволяет не только лучше понимать механизмы гемостаза и тромбоза, но и разрабатывать новые способы диагностики и коррекции их нарушений.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ №19-115-50174 и №19-04-00615. Funding. The reported study was funded by RFBR, project numbers 19-115-50174 and 19-04-00615.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Shibeko A.M. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1494-3125>

Balandina A.N. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7032-6951>

Podoplelova N.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8013-1112>

Panteleev M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8128-7757>

Литература

- Marder V.J., Aird W.C., Bennett J.S., Schulman S., White G.C. II. Hemostasis and Thrombosis: Basic principles and clinical practice. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
- Panteleev M.A., Dashkevich N.M., Ataulakhov 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
- Conway E.M. Complement-coagulation connections. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2018; 29 (3): 243–51. DOI: 10.1097/MBC.0000000000000720
- Gaertner F., Massberg S. Blood coagulation in immunothrombosis-At the frontline of intravascular immunity. *Semin Immunol* 2016; 28 (6): 561–9. DOI: 10.1016/j.smim.2016.10.010
- Periayah M.H., Halim A.S., Mat Saad A.Z. Mechanism Action of Platelets and Crucial Blood Coagulation Pathways in Hemostasis. *Int J Hematol Stem Cell Res* 2017; 11 (4): 319–27.
- Key N.S., Makris M., Lillicrap D. (eds.). Practical Hemostasis and Thrombosis. Third ed. Chichester, West Sussex: John Wiley & Sons; 2017.
- Davie E.W., Fujikawa K., Kurachi K. The role of serine proteases in the blood coagulation cascade. *Adv Enzym Relat Areas Mol Biol* 1979; 48: 277–318. DOI: 10.1002/9780470122938.ch6
- Davie E.W., Fujikawa K., Kisiel W. The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. *Biochemistry* 1991; 30 (43): 10363–70. DOI: 10.1021/bi00107a001
- Zwaal R.F.A. Membrane and lipid involvement in blood coagulation. *Biochim Biophys Acta* 1978; 515 (2): 163–205. DOI: 10.1016/0304-4157(78)90003-5
- Takahashi M., Yamashita A., Moriguchi-Goto S., Sugita C., Matsumoto T., Matsuda S., et al. Inhibition of factor XI reduces thrombus formation in rabbit jugular vein under endothelial denudation and/or blood stasis. *Thromb Res* 2010; 125 (5): 464–70. DOI: 10.1016/j.thromres.2009.12.013
- Morrison D.C., Cochrane C.G. Direct evidence for Hageman factor (factor XII) activation by bacterial lipopolysaccharides (endotoxins). *J Exp Med* 1974; 140 (3): 797–811. DOI: 10.1084/jem.140.3.797
- Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D.S., et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004; 303 (5663): 1532–5. DOI: 10.1126/science.1092385
- Urban C.F., Reichard U., Brinkmann V., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps capture and kill *Candida albicans* yeast and hyphal forms. *Cell Microbiol* 2006; 8 (4): 668–76. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2005.00659.x
- Saitoh T., Komano J., Saitoh Y., Misawa T., Takahama M., Kozaki T., et al. Neutrophil extracellular traps mediate a host defense response to human immunodeficiency virus-1. *Cell Host Microbe* 2012; 12 (1): 109–16. DOI: 10.1016/j.chom.2012.05.015
- Fuchs T.A., Brill A., Duerschmied D., Schatzberg D., Monestier M., Myers D.D., et al. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107 (36): 15880–5. DOI: 10.1073/pnas.1005743107
- Massberg S., Grahl L., von Bruehl M.L., Manukyan D., Pfeiler S., Goosmann C., et al. Reciprocal coupling of coagulation and innate immunity via neutrophil serine proteases. *Nat Med* 2010; 16 (8): 887–96. DOI: 10.1038/nm.2184
- Ammollo C.T., Semeraro F., Xu J., Esmon N.L., Esmon C.T. Extracellular histones increase plasma thrombin generation by impairing thrombomodulin-dependent protein C activation. *J Thromb Haemost* 2011; 9 (9): 1795–803. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2011.04422.x
- von Brühl M.L., Stark K., Steinhart A., Chandraratne S., Konrad I., Lorenz M., et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice *in vivo*. *J Exp Med* 2012; 209 (4): 819–35. DOI: 10.1084/jem.20112322
- Brill A., Fuchs T.A., Savchenko A.S., Thomas G.M., Martinod K., De Meyer S.F., et al. Neutrophil extracellular traps promote deep vein thrombosis in mice. *J Thromb Haemost* 2012; 10 (1): 136–44. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2011.04544.x
- Levin E.G., Marzec U., Anderson J., Harcker L.A. Thrombin stimulates tissue plasminogen activator release from cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1984; 74 (6): 1988–95. DOI: 10.1172/JCI111620
- Booth N.A., Simpson A.J., Croll A., Bennett B., MacGregor I.R. Plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in plasma and platelets. *Br J Haematol* 1988; 70 (3): 327–33. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1988.tb02490.x
- Brogren H., Wallmark K., Deinum J., Karlsson L., Jern S. Platelets Retain High Levels of Active Plasminogen Activator Inhibitor 1. *PLoS One* 2011; 6 (11): e26762. DOI: 10.1371/journal.pone.0026762
- Carr M.E. Development of platelet contractile force as a research and clinical measure of platelet function. *Cell Biochem Biophys* 2003; 38 (1): 55–78. DOI: 10.1385/CBB:38:1:55
- Fox J.E. The platelet cytoskeleton. *Thromb Haemost* 1993; 70 (6): 884–93.

25. Phillips D.R., Charo I.F., Scarborough R.M. GPIIb-IIIa: the responsive integrin. *Cell* 1991; 65 (3): 359–62. DOI: 10.1016/0092-8674(91)90451-4
26. Murrell M., Oakes P.W., Lenz M., Gardel M.L. Forcing cells into shape: the mechanics of actomyosin contractility. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2015; 16 (8): 486–98. DOI: 10.1038/nrm4012
27. Schoenwaelder S.M., Ono A., Nesbitt W.S., Lim J., Jarman K., Jackson S.P. Phosphoinositide 3-Kinase p110 β Regulates Integrin α IIb β 3 Avidity and the Cellular Transmission of Contractile Forces. *J Biol Chem* 2010; 285 (4): 2886–96. DOI: 10.1074/jbc.M109.029132
28. Wufsus A.R., Rana K., Brown A., Dorgan J.R., Liberatore M.W., Neeves K.B. Elastic behavior and platelet retraction in low- and high-density fibrin gels. *Biophys J* 2015; 108 (1): 173–83. DOI: 10.1016/j.bpj.2014.11.007
29. Stalker T.J., Welsh J.D., Tomaiuolo M., Wu J., Colace T.V., Diamond S.L., Brass L.F. A systems approach to hemostasis: 3. Thrombus consolidation regulates intrathrombus solute transport and local thrombin activity. *Blood* 2014; 124 (11): 1824–31. DOI: 10.1182/blood-2014-01-550319
30. Weisel J.W. Biophysics. Enigmas of blood clot elasticity. *Science* 2008; 320 (5875): 456–7. DOI: 10.1126/science.1154210
31. Kunitada S., FitzGerald G.A., Fitzgerald D.J. Inhibition of clot lysis and decreased binding of tissue-type plasminogen activator as a consequence of clot retraction. *Blood* 1992; 79 (6): 1420–7.
32. Tutwiler V., Peshkova A.D., Le Minh G., Zaitsev S., Litvinov R.I., Cines D.B., Weisel J.W. Blood clot contraction differentially modulates internal and external fibrinolysis. *J Thromb Haemost* 2019; 17 (2): 361–70. DOI: 10.1111/jth.14370
33. Huber-Lang M., Sarma J.V., Zetoune F.S., Rittirsch D., Neff T.A., McGuire S.R., et al. Generation of C5a in the absence of C3: a new complement activation pathway. *Nat Med* 2006; 12 (6): 682–7. DOI: 10.1038/nm1419
34. Davis A.E. Biological effects of C1 inhibitor. *Drug News Perspect* 2004; 17 (7): 439–46. DOI: 10.1358/dnp.2004.17.7.863703
35. Ikeda K., Nagasawa K., Horiuchi T., Tsuru T., Nishizaka H., Niho Y. C5a induces tissue factor activity on endothelial cells. *Thromb Haemost* 1997; 77 (2): 394–8.
36. Bosmann M., Grailer J.J., Ruemmler R., Russkamp N.F., Zetoune F.S., Sarma J.V., et al. Extracellular histones are essential effectors of C5aR- and C5L2-mediated tissue damage and inflammation in acute lung injury. *FASEB J* 2013; 27 (12): 5010–21. DOI: 10.1096/fj.13-236380
37. Wojta J., Huber K., Valent P. New aspects in thrombotic research: complement induced switch in mast cells from a profibrinolytic to a prothrombotic phenotype. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2004; 33 (5–6): 438–41. DOI: 10.1159/000083842
38. Martel C., Cointe S., Maurice P., Matar S., Ghitescu M., Thérout P., Bonnefoy A. Requirements for membrane attack complex formation and anaphylatoxins binding to collagen-activated platelets. *PLoS One* 2011; 6 (4): e18812. DOI: 10.1371/journal.pone.0018812
39. Del Conde I., Cruz M.A., Zhang H., López J.A., Afshar-Kharghan V. Platelet activation leads to activation and propagation of the complement system. *J Exp Med* 2005; 201 (6): 871–9. DOI: 10.1084/jem.20041497
40. Antoniak S., Mackman N. Multiple roles of the coagulation protease cascade during virus infection. *Blood* 2014; 123 (17): 2605–13. DOI: 10.1182/blood-2013-09-526277
41. Nhu Q.M., Shirey K., Teijaro J.R., Farber D.L., Netzel-Arnett S., Antalis T.M., et al. Novel signaling interactions between proteinase-activated receptor 2 and Toll-like receptors *in vitro* and *in vivo*. *Mucosal Immunol* 2010; 3 (1): 29–39. DOI: 10.1038/mi.2009.120
42. Antoniak S., Tatsumi K., Bode M., Vanja S., Williams J.C., Mackman N. Protease-Activated Receptor 1 Enhances Poly I:C Induction of the Antiviral Response in Macrophages and Mice. *J Innate Immun* 2017; 9 (2): 181–92. DOI: 10.1159/000450853
43. Verschoor A., Neuenhahn M., Navarini A.A., Graef P., Plaumann A., Seidlmeier A., et al. A platelet-mediated system for shutting blood-borne bacteria to CD8 α^+ dendritic cells depends on glycoprotein GPIb and complement C3. *Nat Immunol* 2011; 12 (12): 1194–201. DOI: 10.1038/ni.2140
44. Guidotti L.G., Inverso D., Sironi L., Di Lucia P., Fioravanti J., Ganzer L., et al. Immunosurveillance of the liver by intravascular effector CD8(+) T cells. *Cell* 2015; 161 (3): 486–500. DOI: 10.1016/j.cell.2015.03.005
45. Maugeri N., Brambilla M., Camera M., Carbone A., Tremoli E., Donati M.B., et al. Human polymorphonuclear leukocytes produce and express functional tissue factor upon stimulation. *J Thromb Haemost* 2006; 4 (6): 1323–30. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2006.01968.x
46. Parry G.C., Mackman N. Transcriptional regulation of tissue factor expression in human endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15 (5): 612–21. DOI: 10.1161/01.atv.15.5.612
47. Houston P., Dickson M.C., Ludbrook V., White B., Schwachtgen J.L., McVey J.H., et al. Fluid shear stress induction of the tissue factor promoter *in vitro* and *in vivo* is mediated by Egr-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19 (2): 281–9. DOI: 10.1161/01.atv.19.2.281
48. Slupsky J.R., Kalbas M., Willuweit A., Henn V., Krocze R.A., Müller-Berghaus G. Activated platelets induce tissue factor expression on human umbilical vein endothelial cells by ligation of CD40. *Thromb Haemost* 1998; 80 (6): 1008–14.
49. Semeraro N., Triggiani R., Montemurro P., Cavallo L.G., Colucci M. Enhanced endothelial tissue factor but normal thrombomodulin in endotoxin-treated rabbits. *Thromb Res* 1993; 71 (6): 479–86. DOI: 10.1016/0049-3848(93)90121-4
50. Erlich J., Fearn C., Mathison J., Ulevitch R.J., Mackman N. Lipopolysaccharide induction of tissue factor expression in rabbits. *Infect Immun* 1999; 67 (5): 2540–6.
51. Dittman W.A., Majerus P.W. Structure and function of thrombomodulin: a natural anticoagulant. *Blood* 1990; 75 (2): 329–36.
52. Girard T.J., Tuley E., Broze G.J. TFPI β is the GPI-anchored TFPI isoform on human endothelial cells and placental microsomes. *Blood* 2012; 119 (5): 1256–62. DOI: 10.1182/blood-2011-10-388512
53. Turner N., Nolasco L., Tao Z., Dong J.F., Moake J. Human endothelial cells synthesize and release ADAMTS-13. *J Thromb Haemost* 2006; 4 (6): 1396–404.
54. Everett L.A., Cleuren A.C.A., Khoriaty R.N., Ginsburg D. Murine coagulation factor VIII is synthesized in endothelial cells. *Blood* 2014; 123 (24): 3697–705. DOI: 10.1182/blood-2014-02-554501
55. Pan J., Dinh T.T., Rajaraman A., Lee M., Scholz A., Czupalla C.J., et al. Patterns of expression of factor VIII and von Willebrand factor by endothelial cell subsets *in vivo*. *Blood* 2016; 128 (1): 104–9. DOI: 10.1182/blood-2015-12-684688
56. Jha N.K., Shestopal S.A., Gourley M.J., Woodle S.A., Liang Y., Sarafanov A.G., et al. Optimization of the thrombin generation test components to measure potency of factor VIII concentrates. *Haemophilia* 2016; 22 (5): 780–9. DOI: 10.1111/hae.12943
57. Ovanosov M.V., Krasotkina J.V., Ul'yanova L.I., Abushinova K.V., Plyushch O.P., Domogatskii S.P., et al. Hemophilia A and B are associated with abnormal spatial dynamics of clot growth. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1572 (1): 45–57. DOI: 10.1016/s0304-4165(02)00278-7
58. Shibeko A.M., Lobanova E.S., Panteleev M.A., Ataullakhanov F.I. Blood flow controls coagulation onset via the positive feedback of factor VII activation by factor Xa. *BMC Syst Biol* 2010; 4: 5. DOI: 10.1186/1752-0509-4-5
59. Ataullakhanov F.I., Gurii G.T. Spatial aspects of the dynamics of blood coagulation. I. Hypothesis. *Biofizika* 1994; 39 (1): 89–96.
60. Zhalyalov A.S., Panteleev M.A., Gracheva M.A., Ataullakhanov F.I., Shibeko A.M. Co-ordinated spatial propagation of blood plasma clotting and fibrinolytic fronts. *PLoS One* 2017; 12 (7): e0180668. DOI: 10.1371/journal.pone.0180668

Психологическая реабилитация в детской онкологии

И.В. Грибкова, В.Н. Степанова, А.А. Завьялов

ГБУ «Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здравоохранения города Москвы», Москва

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 23.01.2020
Принята к печати 06.03.2020

Контактная информация:

Грибкова Ирина Владимировна, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела ГБУ «Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здравоохранения города Москвы»
Адрес: 115088, Москва, ул. Шарикоподшипниковская, 9
E-mail: igribkova@yandex.ru

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 23.01.2020
Accepted 06.03.2020

Correspondence:

Irina V. Gribkova, PhD (bio. sci.), Leading Researcher at the Scientific and Clinical Department, Research Institute for Healthcare Organization and Medical Management of Moscow Healthcare Department
Address: 115088 Moscow, Sharikopodshipnikovskaya st., 9
E-mail: igribkova@yandex.ru

Онкологическое заболевание затрагивает все аспекты жизни больного ребенка и накладывает свой отпечаток на его дальнейшее развитие, в том числе вызывая серьезные изменения в эмоциональной, когнитивной, личностной и поведенческой сферах. Это приводит к снижению качества жизни, трудностям социальной адаптации. В связи с этим такие дети нуждаются в психологической помощи. В статье приведен обзор современных исследований, посвященных методам психологической реабилитации. Описаны следующие методы: спорт, художественная деятельность, изучение иностранных языков, смехотерапия и др. Уделено внимание тому, какие методы наиболее эффективны при нарушениях в той или иной психологической сфере.

Ключевые слова: дети, злокачественные новообразования, онкология, психологические особенности, онкопсихология, реабилитация

Грибкова И.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 151–157.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-151-157

Psychological rehabilitation in pediatric oncology

I.V. Gribkova, V.N. Stepanova, A.A. Zavyalov

Research Institute for Healthcare Organization and Medical Management of Moscow Healthcare Department

An oncological disease affects all aspects of the life of a sick child and leaves its mark on its further development, including causing serious changes in the emotional, cognitive, personal and behavioral areas. This leads to a decrease in the quality of life, difficulties of social adaptation. Therefore, such children need psychological help. The article provides an overview of modern research on psychological rehabilitation methods. The following methods are described: sports, artistic activities, the study of foreign languages, laughter therapy, etc. Attention is paid to what methods are most effective for violations in a particular psychological field.

Key words: children, malignant neoplasms, oncology, psychological characteristics, oncopsychology, rehabilitation

Gribkova I.V. et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 151–157.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-151-157

Онкологическое заболевание – это травматический опыт для ребенка, связанный с многочисленными стресс-факторами, вызывающими у него множество психологических проблем. Стресс затрагивает все аспекты жизни и накладывает свой отпечаток на дальнейшее развитие ребенка, в том числе вызывая серьезные изменения в эмоциональной, когнитивной, личностной и поведенческой сферах. Многие возникающие нарушения сохраняются даже в стадии длительной ремиссии, вызывая снижение качества жизни, трудности социальной адаптации. Таким образом, психологическая помощь детям с онкологическими заболеваниями является необходимой составляющей комплексной реабилитации, включающей также медицинскую и социальную реабилитации [1, 2]. К сожалению, в настоящее время в лечебных учреждениях этому аспекту уделяется мало внимания. В данной статье после краткого описания стресс-факторов и вызванных ими психологических нарушений будут рассмотрены методы психологической реабилитации, успешно применяемые в такой ситуации различными исследователями.

Онкопсихология (от греч. *ονκος* – «опухоль», др.-греч. *ψυχή* – душа, *λόγος* – знание) – современное

направление психологии, которое исследует влияние психологических факторов на возникновение и течение болезни. Ее основными задачами являются изучение психологических особенностей онкологических больных (эмоциональных, когнитивных, поведенческих, особенностей ценностно-смысловой и мотивационной сферы), особенностей реагирования на заболевание и способов совладания с этой кризисной ситуацией, разработка методов диагностики, психотерапии и комплексной реабилитации пациентов, а также методов оказания помощи всем лицам, вовлеченным в процесс лечения онкобольного: родственникам, врачам, медицинским сестрам, психологам.

Факторы, влияющие на психологические особенности детей со злокачественными новообразованиями

Психологическая реабилитация в детской онкологии имеет несколько основополагающих принципов: раннее начало (еще на этапе постановки диагноза); продолжение на этапе специального лечения и на этапе отмены терапии, до выздоровления; включение в объект заботы не только больных детей, но и их родителей [2]. Это необходимо, так

как каждый этап лечения воздействует на ребенка, вызывая у него стресс и влияя на его психику, а взаимоотношения с родителями и общая атмосфера в семье заболевшего ребенка являются очень важными вехами на пути его психического здоровья.

Согласно современным исследованиям, психологические особенности детей, страдающих онкологическими заболеваниями, отличающие их от нормально развивающихся здоровых сверстников, мало зависят от нозологической формы опухолевого процесса и в большей степени определяются возрастом пациента на момент начала заболевания и совокупностью негативных эндогенных, психогенных и соматогенных факторов, влияющих на психику ребенка в каждом конкретном случае [1]. Основными факторами, определяющими психологическое состояние заболевших детей, являются [2–4]:

1. Само проявление болезни (непривычное чувство слабости, потери физической и интеллектуальной активности, боль).
2. Обследование (неопределенность, отрыв от матери и привычной обстановки, болезненные диагностические процедуры).
3. Госпитализация (оторванность от дома и привычного общения со здоровыми сверстниками, незнакомая обстановка, болезненные манипуляции, страх диагноза, ухудшение самочувствия в процессе лечения, изменения внешности, связанные с терапией).
4. Обсуждение с ребенком его болезни (отказ от обсуждения диагноза или, наоборот, чрезмерная откровенность).
5. Возможность рецидива («дамоклов меч»).
6. Внутрисемейные отношения (отвергание больного ребенка, чрезмерная фиксация на его болезни, необоснованное игнорирование серьезности заболевания, гиперопека родителей).
7. Возраст ребенка, его жизненный опыт, включающий этническую, религиозную, культурную атмосферу, в которой растет ребенок.

Психологические особенности детей с онкологическим заболеванием

Воздействие всех этих факторов приводит к изменению эмоциональной, личностной и поведенческой сфер ребенка. У некоторых детей, страдающих злокачественными новообразованиями, эти изменения сохраняются в течение длительного периода, в том числе и в стадии ремиссии [5–7]. Рассмотрим основные изменения в личности больного ребенка.

Эмоциональная сфера. По данным современных исследователей, психическое состояние детей, страдающих онкологическими заболеваниями, на всех этапах, включая этап постановки диагноза, характеризуется резко выраженной астенией (быстрым

физическим и психическим утомлением), проявлениями тревожности, депрессии [4, 6, 8–10], эмоциональной неустойчивостью [9, 10], большим количеством страхов, агрессивных проявлений. На этапе лечения и в стадии ремиссии помимо тревожности появляются подавленность, страх перед новизной, посттравматическое стрессовое расстройство [6].

Познавательная сфера. У детей, страдающих онкологическими заболеваниями, имеются выраженные нарушения памяти, снижение способности к концентрации внимания, затруднения в интеллектуальной переработке информации, снижение обучаемости [6, 8, 10–13]. Эти симптомы нейрокогнитивного дефицита усиливаются на этапе лечения во время химио- или лучевой терапии.

Личностная сфера. Для детей, страдающих злокачественными новообразованиями, характерны заниженная самооценка [4, 8], недостаточное развитие самосознания и слабая структура представлений о себе. Они не способны анализировать свою деятельность и соотносить мнения, переживания и действия с мнениями и оценками окружающих. Их учебная мотивация слабо сформирована, что связано с длительными периодами обострения заболевания, мешающими систематической учебной деятельности [4]. Становление личности нередко сопровождается формированием патохарактерологических черт: крайняя ранимость, обидчивость, склонность к фантазированию, отгороженность от сверстников, эгоистические установки, фиксация на своей болезни [8, 10]. У детей возникают трудности в установлении равноправных партнерских отношений, беспокойство о будущем в связи с карьерой и межличностными отношениями [6], происходит утрата субъективного смысла жизни, важнейших ориентиров и ценностей, переживание невозможности осуществления своих жизненных замыслов и утверждения себя в них [14].

Поведенческая сфера. Дети, страдающие злокачественными новообразованиями, склонны к ограничительному и избегающему поведению [6, 14]. Они чувствуют себя отвергнутыми, одинокими и предпочитают общаться либо с младшими детьми, либо, наоборот, со старшими [14]. С близкими людьми такие дети нередко ведут себя деспотично, требуют повышенного внимания [8], манипулируют окружающими. Также возможны агрессивное поведение, непослушание, грубость, порой с оттенком жестокости, демонстрация недовольства, обиды. Или, наоборот, замкнутость, отказ от речевого общения. Данные реакции могут проявляться не только против родителей и медицинского персонала, но и против взрослых вообще [3]. В то же время больные дети нередко испытывают чувство вины перед родителями, перед всеми [2].

Очевидно, что таким детям требуются психологическая коррекция и реабилитация, нацеленные на оптимизацию их психологического статуса и повышение качества жизни. Для этого необходимо проведение грамотной психолого-педагогической работы с пациентами. При этом известно, что консультирование психолога будет иметь ожидаемый эффект лишь при наличии запроса на такую помощь от родителей или от самих больных детей (пациентов старшего или подросткового возраста). Лечащий врач порой не в состоянии самостоятельно оказать такую психологическую помощь пациентам, однако он может подготовить их к встрече с психологом. По данным Национального руководства по детской онкологии [2], так как лечащий врач, как правило, имеет непререкаемый авторитет у больного и его родителей, консультирование психолога должно назначаться лечащим врачом так же, как назначаются лечебные и диагностические процедуры.

В данной работе приведен обзор исследований последних лет, посвященных методам психологической реабилитации. В *таблице* указаны методы, рекомендуемые к применению в зависимости от нару-

шений в той или иной сфере ребенка. Ниже данные методы рассмотрены более подробно.

Методы психологической реабилитации

Спорт. В своей работе Л.В. Сидоренко и соавт. [15] наблюдали за пациентами в возрасте от 10 до 17 лет, сроки ремиссии у которых варьировались от 5 до 14 лет. Исследователи применяли направленное психологическое сопровождение при различных физических нагрузках в рамках подготовки к соревнованиям. В зависимости от исходного статуса с пациентами проводилась тренировка мотивации, внутреннего фокуса внимания, умения быстро переключаться при аэробных нагрузках и выдерживать высокое напряжение при анаэробных нагрузках. После завершения соревнований большинство участников сохраняли высокую мотивацию, демонстрируя способность продолжать деятельность, несмотря на усталость, боль или желание заняться чем-либо другим. Однако, как сообщили авторы исследования, высокую уверенность в собственных силах, способность обучаться спортивным навыкам и выполнять их на определенном уровне в условиях соревнований демонстрировали лишь половина участников, преимущественно дети, занимающиеся в спортивных секциях.

Таблица

Методы психологической реабилитации, рекомендуемые к применению, в зависимости от нарушений в той или иной сфере ребенка

Table

Methods of psychological rehabilitation depending on disturbances in a particular sphere of the child

Сфера личности, в которой отмечены нарушения The sphere of personality in which disturbances are noted	Рекомендуемый метод реабилитации Recommended method of rehabilitation	Результаты применения метода Results of applying the method	Источник Studies
Эмоциональная Emotional	Художественная деятельность (арт-терапия, метод серийных рисунков и рассказов), музеи, смехотерапия, канистерапия, краткосрочная стратегическая терапия, реабилитационные лагеря Artistic activity (art therapy, method of serial drawings and stories), museums, laughter therapy, canis-therapy, short-term strategic therapy, rehabilitation camps	Снимаются тревожность и негативные переживания, повышается стрессоустойчивость, создается позитивный настрой, восстанавливается положительное восприятие жизни Anxiety and negative experiences are removed, stress resistance increases, a positive mood is created, and a positive perception of life is restored	[16–18, 21–29]
Познавательная Cognitive	Изучение иностранных языков, работа на тренажерах коррекции когнитивных нарушений, канистерапия, реабилитационные лагеря Learning foreign languages, working on simulators for correction of cognitive disorders, canis-therapy, rehabilitation camps	Улучшаются фокусировка внимания, память, интеллектуальная деятельность Focusing attention, memory, and intellectual activity are improved	[19, 20, 26–29]
Личностная Personal	Спорт, музеи, реабилитационные лагеря Sports, museums, rehabilitation camps	Появляется вера в собственные силы, повышается мотивация, способность обучаться; дети осознают безграничность своих возможностей, происходит самоидентификация среди сверстников There is a belief in their own strength, increased motivation, ability to learn; children are aware of the limitlessness of their capabilities, self-identification occurs among peers	[15, 18, 28, 29]
Поведенческая Behavioral	Изучение иностранных языков, смехотерапия, канистерапия, краткосрочная стратегическая терапия, реабилитационные лагеря Learning foreign languages, laughter therapy, canis-therapy, short-term strategic therapy, rehabilitation camps	Устраняются трудности в общении, последствия родительской гиперопеки, снижается агрессия Communication difficulties are eliminated, the consequences of parental overprotection are reduced, and aggression is reduced	[19, 21–29]

Художественная деятельность. Арт-терапия снижает негативные эмоциональные состояния, сглаживает различные отклонения и нарушения личностного развития. Она не занимает много времени, что делает ее применимой при оказании экстренной психологической помощи.

В работе С.А. Агафоновой [16] описан опыт проведения занятий по рисованию с несовершеннолетними детьми, проходящими длительное лечение в стационаре. Автором предлагается метод рисования по рельефным трафаретам, который подойдет даже сильно неуверенным в себе детям. Раскрашивание полученного изображения точками с помощью косметических ватных палочек очень хорошо снимает тревожность и негативные переживания. В занятии могут участвовать и другие члены семьи: мамы и бабушки.

В работе И.М. Никольской [17] описан авторский метод серийных рисунков и рассказов. Данный метод используется в работе с детьми, начиная с 6 лет. Он включает в себя психодиагностику, психологическое консультирование и арт-терапию одновременно. Так, с его помощью можно выявить неосознаваемые, трудно контролируемые и одновременно значимые эмоционально-мотивационные проявления личности. Во время сеанса (40–60 мин) ребенку предлагают нарисовать 5–9 рисунков на заданные темы. Затем он по каждому из них составляет вместе с психологом устный или письменный рассказ о том, что там изображено. Через продукты невербального и вербального творчества ребенок отражает особенности своего внутреннего мира и системы отношений (представления о себе и окружающих, желания, конфликты и переживания и т.д.) и может их осознать, реагировать на проблемы через визуализацию, вербализацию, обсуждение и разделение с другим человеком. Безусловное одобрение и принятие со стороны психолога, независимо от содержания, формы и качества рисунков и рассказа ребенка, – важнейший принцип арт-терапии.

Музеи. В процессе психологической реабилитации музеи, являющиеся неиссякаемым источником новых знаний, эмоций и впечатлений, позволяют ребенку восстановить положительное восприятие жизни и общества, снизить уровень стресса, порожденного заболеванием [18].

В стационаре самая доступная форма работы музеев с онкологическими пациентами – организация выставок творчества больных детей. Такие выставки уже проходили в Музее современного искусства в Москве, Третьяковской галерее, Государственном музее изобразительных искусств им. А.С. Пушкина, Галерее искусств Зураба Церетели, галереях благотворительных фондов. Дети поделились, что в процессе творчества они забывают о сложностях,

связанных с их болезнью, и гордятся, что их работы попали на выставку, и это стимулирует их выздоровление.

С детьми, которые больше не нуждаются в стационарном лечении, реабилитационные мероприятия могут проводиться непосредственно в пространстве музея. Это экскурсии, а также мастер-классы по технике рисования песком, расписыванию глиняной посуды, мастерству декупажа и т. д. В процессе творчества дети осознают безграничность своих возможностей.

Изучение иностранных языков. Одним из методов восстановления пациентов с трудностями запоминания и концентрации внимания может быть изучение иностранных языков. В работе В.Л. Пак [19] говорится о том, что существует тесная связь между лингвистическими функциями и когнитивной ориентацией, пространственным, зрительным восприятием и мышлением. Автор сообщает, что изучение другого языка очень полезно для общения и положительно влияет на многие когнитивные способности. Оно также может улучшить эмоциональное самочувствие, самооценку и тем самым повлиять на восстановление качества жизни.

Тренажеры коррекции когнитивных нарушений. Для коррекции когнитивных нарушений у пациентов с онкологическими заболеваниями А.С. Пчелинцева и соавт. [20] в своей работе использовали тренажер NeuroTracker компании CogniSens, созданный группой разработчиков во главе с канадским нейрофизиологом Джоселином Фабертом. В тренажере NeuroTracker используется визуальная система, работа в которой позволяет стимулировать активность областей мозга, функционально связанных с процессами памяти и концентрации внимания. Общий вид устройства: экран с большой диагональю и возможностью воспроизведения 3D-изображений, компьютер, программное обеспечение, мышь, клавиатура, 3D-очки. Тренажер NeuroTracker создан по результатам многолетних исследований и успешно применяется как в области спортивной психологии, так и для тренировки профессионалов военных специальностей, а также в зарубежных клиниках. Регулярные тренировки значительно улучшают пространственные навыки слежения, способности точно запоминать и идентифицировать релевантные объекты, а также выполнять задание на повышенной скорости и в условиях большого количества стимулов.

В исследование были включены дети с опухолями центральной нервной системы старше 6 лет, не имеющие грубых моторных расстройств. Результаты диагностики показали дефицитарность или незрелость психомоторных функций и когнитивной сферы у этих детей. В частности, отмечались трудности

систематизированного мышления, интеллектуальной деятельности, нарушения зрительной и рабочей памяти, визуально-моторной интеграции и зрительно-моторной координации.

Результаты показали, что люди с ограниченными когнитивными возможностями, к которым относятся пациенты, перенесшие противоопухолевую терапию, способны релевантно выполнять задания на описываемом когнитивном тренажере и повышать свою результативность в процессе тренировок, не испытывая затруднений с освоением метода и совершенствованием на нем своих навыков. Наблюдалось восстановление когнитивных и перцептивных способностей. Сравнение результатов в 3 возрастных группах (6–9, 10–13 и 14–17 лет) показало, что у подростков были наиболее высокие результаты в улучшении когнитивных функций.

Смехотерапия (гелототерапия). В работе А.В. Скутина [21] описаны результаты научных исследований отечественных клинических психологов в области юмора, смеха и карикатуры. Они доказывают пользу юмора и смеха для психического здоровья человека, поскольку помогают справляться со стрессом.

Отечественная методика смехотерапии (гелототерапии) предусматривает проведение 4 этапов: дыхательных смехотехник, смехомедитации, креативных и психодинамических смехотехник и на завершающем этапе – рассказ смешных шуток, историй, анекдотов, афоризмов, частушек и проч.

Гелототерапия показала свою эффективность в коррекции различных расстройств: нарушения адаптации, депрессивные реакции, невротические состояния и др. Способ не имеет возрастных ограничений, может быть использован как пациентами с пограничными психическими расстройствами для лечения, так и практически здоровыми людьми для профилактики возникновения различных психических расстройств.

В другом исследовании А.В. Скутина [22] показано, что после проведения групповых занятий с пациентами с расстройствами адаптации в виде кратковременных и пролонгированных депрессивных реакций уровень тревожности снизился, а уровень стрессоустойчивости и саморегуляции повысился.

В работе А.В. Скутина и И.Н. Мороз [23] доказано статистически значимое улучшение таких показателей, как личностная и ситуативная тревожность, депрессия, фон настроения, физическая и вербальная агрессия, негативизм, раздражение и аутоагрессия.

В исследовании К.В. Ващенко [24] показана связь между возникновением различных эмоций и их влиянием на адаптационные возможности субъекта. Таким образом, повышенный эмоциональный фон способствует лучшей адаптации.

Краткосрочная стратегическая терапия. В исследовании Е.В. Фисун и Р.Б. Мирошкина [25] описана работа с эмоционально-поведенческими нарушениями у детей после онкологических заболеваний методом краткосрочной стратегической терапии Дж. Нардонэ. Это вид психотерапии, в котором, используя переформулирование, метафоры, предписания (часто парадоксальные), терапевт меняет восприятие ситуации и систему взаимодействий в семье и тем самым помогает найти альтернативное, функциональное решение проблемы. При этом сама причина возникновения проблемы неважна.

Преимуществами метода являются стойкость терапевтического эффекта и краткосрочность (от 2–5 до 10 встреч), что соответствует времени пребывания семьи в реабилитационном центре.

В работе сообщается, что наиболее эффективно поддавались коррекции фобические и обсессивно-компульсивные расстройства, а также проблемы детско-родительских отношений (детские истерики и непослушание).

В рамках терапии семья испытывает новый эмоционально-корректирующий опыт (неизменяемая проблема все-таки поддается изменению), а родители восстанавливают свое ощущение компетентности, поскольку они выступают в роли ко-терапевтов в лечении. Это очень важно в работе с семьями, поскольку родители детей, перенесших онкологическое заболевание, часто испытывают чувство вины, беспомощность, несостоятельность как родителей.

Канистерапия. В работах И.Д. Кароматова и соавт. и М.Н. Мальцевой и соавт. [26, 27] описано применение канистерапии – лечения и реабилитации больных при помощи собаки. Канистерапия сочетает в себе психотерапию, двигательную и неврологическую реабилитацию. Занятия проводятся в форме специальных игр и упражнений с ассистирующими специалистами собаками.

Канистерапия снижает уровень депрессии, уменьшает количество использованных анальгетиков, вероятно, посредством снижения уровня тревоги и уменьшения ожидания боли. Занятия с собаками также увеличивают функциональную независимость ребенка, развивают физические навыки, способности к самообслуживанию, навыки взаимодействия. Занятия с собакой способствуют улучшению интеллектуальной и познавательной сфер ребенка, мотивируют к обучению.

Противопоказаниями к канистерапии являются аллергические и воспалительные заболевания, астма, выраженный страх перед животными.

Реабилитационный лагерь. В статьях М.А. Гусевой и соавт. и К.С. Асланяна и соавт. [28, 29] описана работа реабилитационных лагерей для детей, пере-

несших онкологические заболевания. Основная задача программы реабилитации – преодоление социальной депривации, формирующейся в процессе лечения, успешная интеграция в общество путем включения детей в совместную творческую деятельность.

В лагерях используется специальная программа работы с детьми, построенная по принципу чередования видов деятельности с постепенным накоплением и усложнением заданий. Основная идея – погружение в конкретную тему каждый день (день сильных и смелых, день танца, день красок, день музыки, день цирка, день научных конференций, двухдневный поход с палатками). При этом используются самые разные виды деятельности: искусство, спорт, психологические занятия, творческие задания, беседы и т. д., которые логически выстроены и переходят из одного в другой.

Дети являются активными соавторами «дней погружения». Они могут проявлять себя творчески, например, помогая в проведении мастер-классов, презентаций, уроков танцев для своих сверстников. Это повышает самооценку детей, уверенность в себе, коммуникативные навыки, создает мотивацию к обучению, творчеству, дружеский климат.

Помимо этого, в лагере проводятся групповые и индивидуальные занятия с психологом, тренинги по навыкам общения, игровая психотерапия, арт-терапия. Такое психологическое сопровождение помогает решить личностные и семейные проблемы, развить интеллектуальные способности, устранить устойчивые вредные привычки.

Положительное влияние также оказывает то, что в лагере дети живут без родителей в разновозрастном коллективе. Опыт самостоятельной жизни способствует оздоровлению психики ребенка, восстановлению навыков общения, устранению последствий

родительской гиперопеки, самоидентификации среди сверстников.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Детям со злокачественными новообразованиями для улучшения качества жизни и облегчения социальной адаптации на всех этапах терапии, включая этап диагностики, а также после окончания лечения и выписки из стационара необходима психологическая реабилитация. Консультирование психолога должно назначаться лечащим врачом, чтобы психологическая реабилитация стала неотъемлемым элементом терапии тяжелобольного ребенка. Художественная деятельность, участие в программах, организуемых музеями, смехотерапия, канистерапия эффективны для коррекции эмоциональной сферы ребенка. Для повышения мотивации и уверенности в себе показаны занятия спортом. При нарушениях в когнитивной сфере можно рекомендовать изучение иностранных языков и занятия на специальных тренажерах коррекции когнитивных нарушений. Проблемы взаимодействия в семье хорошо решаются с помощью краткосрочной стратегической терапии. Универсальным методом являются реабилитационные лагеря.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Gribkova I.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7757-318X>

Stepanova V.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7003-1521>

Zavialov A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1825-1871>

Литература

1. Бирюкова И.А. Психологические особенности детей, страдающих онкозаболеваниями. Известия высших учебных заведений. Уральский регион 2018; (1): 107–12.
2. Детская онкология. Национальное руководство. М.: Издательская группа РОНЦ, Практическая медицина; 2012.
3. Онкопсихология для врачей-онкологов и медицинских психологов. Руководство. СПб.: Изд-во АНО «Вопросы онкологии»; 2017.
4. Бяй Е.Г. Применение интегративного подхода в рамках психологической поддержки детей и их родителей, находящихся на лечении в онкологическом стационаре. Сборник тезисов V Всероссийского съезда онкопсихологов. М.: Издательский центр АНО «Проект СО-действие»; 2013. С. 11–6.
5. Рагозинская В.Г., Сабирова А.В. Качество жизни детей с онкогематологической патологией. В сборнике: Ананьевские чтения. СПб.: Изд-во СПбГУ; 2004. С. 135–6.
6. Wedekind M.F. The psychological effects of experiencing pediatric oncology. Knoxville: University of Tennessee; 2006.
7. Сабирова А.В., Русанова Н.Н., Колосова О.С., Рагозинская В.Г. Психологические особенности и качество жизни детей с острым лимфобластным лейкозом в стадии длительной клинико-гематологической ремиссии. В сборнике: Вторые Тульские педиатрические чтения. Тула; 2003. С. 77–8.
8. Детская онкология. Руководство для врачей. СПб.: СпецЛит; 2002.
9. Аноприенко Е.В., Ковальская Т.Л., Меркотан А.И. Психологическая поддержка детей с онкогематологической патологией методом сенсорной интеграции «сенсорная комната». Сборник тезисов VI Всероссийского съезда онкопсихологов. М.: Изда-

- тельский центр АНО «Проект СО-действие»; 2014. С. 7–9.
10. Мирошкин Р.Б., Фисун Е.В., Бобровская А.В., Карапетян Л.А., Стригина М.И., Анисимова В.Н. Исследование психологического статуса у детей с разными онкологическими диагнозами на втором этапе реабилитации. Российский журнал детской онкологии и гематологии 2017; (спецвыпуск): 78–9.
 11. Аринцина И.А., Стромоева М.А. Психологические особенности дошкольников 5–6 лет с онкогематологическим заболеванием. Сборник тезисов III Всероссийского съезда онкопсихологов. М.: Издательский центр АНО «Проект СО-действие»; 2011. С. 13–5.
 12. Цейтлин Г.Я. Детская онкология: психологические проблемы. Сборник тезисов I Съезда Ассоциации онкопсихологов России. М.: Издательский центр АНО «Проект СО-действие»; 2009. С. 38–40.
 13. Ткаченко И.В. Нейропсихологическая характеристика детей с онкологическими заболеваниями в периоде клинико-гематологической ремиссии. Здравоохранение Дальнего Востока 2009; 2 (40): 16–8.
 14. Довбыш Д.В. Особенности внутренней картины болезни детей с онкологическими заболеваниями. Сборник тезисов V Всероссийского съезда онкопсихологов. М.: Издательский центр АНО «Проект СО-действие»; 2013. С. 27–9.
 15. Сидоренко Л.В., Чайковская И.А., Головки Ю.А., Мирошкин Р.Б., Баербах А.В., Захарова Т.Н. Спорт как эффективный метод реабилитации пациентов, излеченных от злокачественных новообразований. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2019; 6 (S1): 149–50.
 16. Агафонова С.А. Психологическая реабилитация детей-инвалидов с онкологическими заболеваниями средствами художественной деятельности. Педагогический опыт: теория, методика, практика 2015; 3 (4): 189–92.
 17. Никольская И.М. Метод серийных рисунков и рассказов в психологических консультациях по разрешению споров между родителями о воспитании ребенка. Педиатр 2015; 6 (4): 105–11.
 18. Каймакина А.А. Проблемы взаимодействия музеев с детьми, имеющими онкологические заболевания. Труды молодых ученых Алтайского государственного университета 2015; 1 (12): 21–4.
 19. Пак В.Л. Как влияет изучение иностранных языков на процесс восстановления пациентов с ЧМТ? Авиценна 2019; (33): 14–6.
 20. Пчелинцева А.С., Мирошкин Р.Б., Фисун Е.В., Жуковская Е.В., Карелин А.Ф. Применение тренажеров коррекции когнитивных нарушений у детей и подростков после завершения противоопухолевой терапии злокачественных новообразований центральной нервной системы. Российский психологический журнал 2017; 14 (3): 153–68.
 21. Скутин А.В. Гелототерапия/смехотерапия среди современных отечественных исследований юмора, смеха и карикатуры (обзор литературы), исследования в спорте. Научно-спортивный вестник Урала и Сибири 2018; 4 (20): 40–9.
 22. Скутин А.В. Примерный комплекс упражнений, используемых в отечественной методике гелототерапии. Сибирский вестник психиатрии и наркологии 2011; 5 (68): 81–4.
 23. Скутин А.В., Мороз И.Н. Включение гелототерапии в комплексную реабилитацию пациентов с невротическими расстройствами. Medline.ru. Российский биомедицинский журнал 2015; 16 (4): 1151–60.
 24. Ващенко К.В. О доминирующих стратегиях в поведении человека. Психология XXI века. Материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых. СПб.; 2011. С. 142–4.
 25. Фисун Е.В., Мирошкин Р.Б. Коррекция эмоционально-поведенческих проблем у детей, перенесших онкологическое заболевание, методами краткосрочной стратегической терапии. Психология и психотерапия семьи 2017; (1): 24–31.
 26. Кароматов И.Д., Баймуродов Р.С. Канистерапия (обзор литературы). Биология и интегративная медицина 2017; 4: 236–54.
 27. Мальцева М.Н., Мельникова Е.В., Шмонин А.А., Чечкова А.А., Иванова Г.Е. Канистерапия в реабилитации детей с онкологическими заболеваниями. Вестник восстановительной медицины 2014; 5 (63): 51–6.
 28. Гусева М.А., Богданова Н.В., Цейтлин Г.Я. Реабилитационная лагерная программа в детской онкологии. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2011; 10 (4): 39–43.
 29. Асланян К.С., Маркова Н.В., Аргументова А.О. Организация и проведение реабилитационной программы на примере реабилитационного лагеря для детей, перенесших онкологические и гематологические заболевания, «Радуга дружбы». Российский журнал детской гематологии и онкологии 2019; 6 (S1): 143.

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 31.03.2020
Принята к печати 22.06.2020

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-158-163

Неинвазивная диагностика перегрузки железом методом магнитно-резонансной томографии

Э.Э. Назарова¹, Д.А. Куприянов^{1, 2}, Г.А. Новичкова¹, Г.В. Терещенко¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва
²Philips «Здравоохранение», Москва

Оценка содержания железа в организме необходима для подтверждения диагноза перегрузки железом и коррекции хелаторной терапии у пациентов с трансфузионно-зависимыми формами анемии. Избыточное накопление железа в органах ведет к нарушению их функций. До недавнего времени количественную оценку железа проводили с помощью инвазивного определения его концентрации в паренхиме печени или косвенно оценивали избыточное содержание железа в организме пациента в целом по концентрации ферритина в сыворотке крови. Однако метод магнитно-резонансной томографии (МРТ) показал большую эффективность в определении концентрации железа в организме. В данной статье рассматриваются основные методики и принципы неинвазивной оценки содержания железа методом МРТ, а также их технические характеристики. **Ключевые слова:** магнитно-резонансная диагностика, магнитно-резонансная релаксометрия, T2*-картирование, перегрузка железом

Назарова Э.Э. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 158–163. DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-158-163

Noninvasive assessment of iron overload by magnetic resonance imaging

E.E. Nazarova¹, D.A. Kupriyanov^{1, 2}, G.A. Novichkova¹, G.V. Tereshchenko¹

¹Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology Ministry of Healthcare Russian Federation, Moscow
²Philips "Healthcare", Moscow

The assessment of iron accumulation in the body is important for the diagnosis of iron overload syndrome or planning and monitoring of the chelation therapy. Excessive iron accumulation in the organs leads to their toxic damage and dysfunction. Until recently iron estimation was performed either directly by liver iron concentration and/or indirectly by measuring of serum ferritin level. However, noninvasive iron assessment by Magnetic resonance imaging (MRI) is more accurate method unlike liver biopsy or serum ferritin level test. In this article, we demonstrate the outlines of non-invasive diagnostics of iron accumulation by MRI and its specifications.

Key words: magnetic resonance diagnostics, magnetic resonance relaxometry, T2* mapping, iron overload

Nazarova E.E., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 158–163.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-158-163

Контактная информация:
Назарова Эвелина Эдуардовна,
лаборант-исследователь,
врач-рентгенолог рентгенологического
отделения ФГБУ «Национальный
медицинский исследовательский центр
детской гематологии, онкологии
и иммунологии им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: evelina.nazarova@fccho-moscow.ru

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 31.03.2020

Accepted 22.06.2020

Correspondence:
Evelina E. Nazarova, research assistant,
radiologist of radiology department,
Dmitry Rogachev National Medical
Research Center of Pediatric Hematology,
Oncology and Immunology, Ministry
of Healthcare of Russian Federation
Address: Russia, 117997, Moscow,
Samory Mashela st., 1
E-mail: evelina.nazarova@fccho-moscow.ru

Перегрузка железом – клинический синдром, характеризующийся избыточным накоплением железа в организме и возникающий в результате генетически обусловленного, а также приобретенного его накопления вследствие неэффективного эритропоэза и/или частых заместительных трансфузий донорских эритроцитов для коррекции анемии [1]. Наследственный гемохроматоз характеризуется нарушением абсорбции железа клетками организма вследствие мутаций генов *HFE*, *HJV*, *TFR2*, *FPN1* или *HFEPC* [2]. Приобретенная перегрузка железом возникает в результате дефектов в метаболизме гема, длительной трансфузионной терапии донорскими эритроцитами или неэффективного эритропоэза, что приводит к накоплению железа в макрофагальных клетках печени, селезенки и костного мозга, а после их перенасыщения – к его отложениям в паренхиматозных клетках печени, поджелудочной железы, миокарда, гипофиза и вызывает ряд заболеваний,

таких как кардиомиопатия, цирроз печени, диабет, артрит и гипогонадизм [3–7].

До недавнего времени не существовало простой неинвазивной методики измерения концентрации железа в организме, которая бы достоверно указывала на перегрузку. Количественную оценку железа проводили косвенно с помощью определения сывороточного ферритина и/или прямо путем биопсии печени [8–9]. Однако оба метода имеют ряд ограничений, к примеру, на точность определения содержания железа по концентрации сывороточного ферритина влияют инфекционные, воспалительные и злокачественные процессы, а при использовании биоптата печени может развиться кровотечение из места биопсии и существует высокий риск заниженного значения при наличии фиброза (цирроза) печени [15]. Идея использования магнитно-резонансной томографии (МРТ) в диагностике перегрузки железом в организме была предложена в 1983 г. D. Stark и соавт., уже тогда было установлено,

что наличие избыточного количества железа в ткани ведет к потере интенсивности сигнала на магнитно-резонансных (МР)-изображениях [10]. Дальнейшие исследования подтвердили теорию относительно корреляции между степенью перегрузки железом и интенсивностью МР-сигнала [11–13]. В течение последнего десятилетия благодаря исследованиям L.J. Anderson и соавт. [14], T.G.St. Pierre и соавт. [15], Y. Gandon и соавт. [16], J.M. Alustiza и соавт. [5] и J.C. Wood и соавт. [17] стало доступно количественное определение железа в печени и миокарде. На сегодняшний день методы определения содержания железа при помощи МРТ активно используются для оценки эффективности хелаторной терапии у больных с перегрузкой железом различного генеза, а также входят в состав рекомендаций по диагностике перегрузки железом [18].

Цель настоящего обзора: рассмотреть основные методики и принципы неинвазивной оценки содержания железа методом МРТ и их технические характеристики.

Железо и магнитно-резонансная томография

В ферромагнетических веществах магнитные моменты связаны между собой и выстроены параллельно друг другу, вследствие чего атомы железа сильно укорачивают время релаксации магнитного поля [19]. Взаимодействие между высокомолекулярными комплексами железа (например, ферритином или гемосидерином) и молекулами воды приводит к

Рисунок 1
Влияние атомов железа на время релаксации ткани

Figure 1
The influence of iron on tissue relaxation time

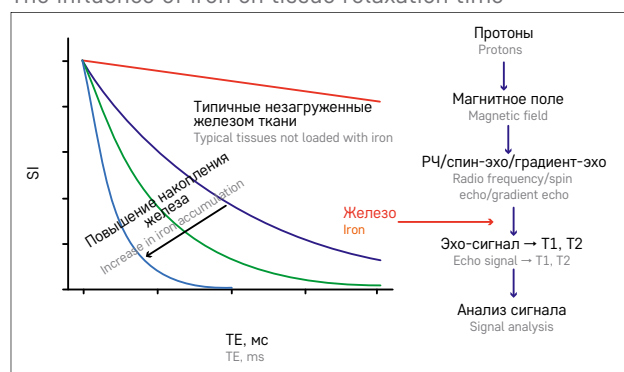
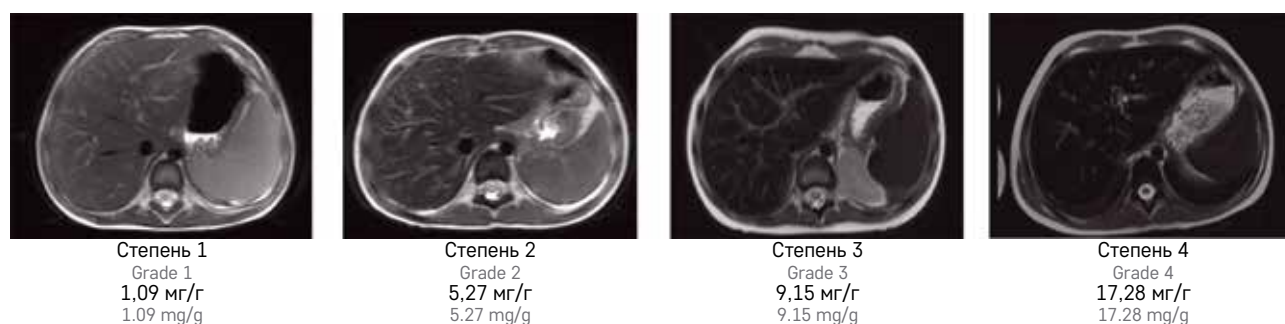


Рисунок 2
Влияние атомов железа на T2-ВИ в зависимости от тяжести перегрузки железом (собственные данные авторов)

Figure 2
The influence of iron on T2-weighted images (WI) based on the severity of iron overload (authors' own data)



быстрой расфазировке вектора поперечной намагниченности (т. е. к снижению значений времени T2- и T2*-релаксации) в тканях с избыточным содержанием железа, что определяется как снижение интенсивности сигнала от ткани (рисунок 1). На рисунке 2 продемонстрировано влияние атомов железа на T2-взвешенные изображения (ВИ) в зависимости от тяжести перегрузки железом. Считается, что последовательности быстрого градиентного эха (GRE) более чувствительны к неоднородностям магнитного поля, благодаря этому их чаще используют для количественной оценки перегрузки железом [20].

Методы МРТ для визуализации отложений железа в тканях условно можно разделить на 2 группы: метод отношения интенсивностей сигнала (SIR) и метод релаксометрии [21].

Метод отношения интенсивностей сигнала

Метод SIR основан на измерении интенсивности сигнала органа-мишени по отношению к жировой ткани или параспинальным мышцам путем очерчивания областей интереса (ROI) [12, 21]. Выбор ROI осуществляется с учетом следующих критериев: одинаковое количество пикселей, отсутствие мелких и крупных сосудов, которые могут вносить искажения в получаемые результаты; фиброза, который также является причиной возникновения артефактов на МР-изображениях и двигательных артефактов. Далее находят среднюю интенсивность сигнала, используя несколько ROI, выбранных с учетом данных критериев, а затем отношение интенсивностей сигнала в усредненных ROI к эталонной ткани. Гипоинтенсивная относительно параспинальных мышц печень указывает на перегрузку железом. При сильной перегрузке железом интенсивность сигнала печени ниже, чем у параспинальных мышц даже на изображениях, полученных с использованием последовательностей с ограниченной чувствительностью к перегрузке железом (например, T1-ВИ и изображения, взвешенные по протонной плотности (PD-ВИ)) [22].

Впервые данный метод был применен группой исследователей во главе с R.J. Hernandez с использованием последовательностей градиентного эха [23].

Наиболее широкое распространение получил протокол Y. Gandon и соавт., опубликованный в Lancet в 2004 г., включающий в себя 5 градиентных последовательностей с различными временами эхо (TE) (таблица 1) [16]. В исследовании принимали участие 139 пациентов, которым была проведена оценка концентрации железа в печени (LIC). Результаты были проверены на 174 пациентах с использованием контрольной группы, состоящей из 35 человек. Исследования, основанные на данном алгоритме, были проведены группами ученых по всему миру и показали хорошую корреляцию с результатами Y. Gandon и соавт. [16]. В аналогичной работе, проведенной J.M. Alústiza и соавт., была наглядно продемонстрирована зависимость интенсивности сигнала от перегрузки железом печени [5].

Использование алгоритма с отношением интенсивностей сигнала, полученным для последовательностей с различными TE, позволило расширить диапазон обнаружения концентрации железа до 19,5 мг/г сухого веса, что невозможно при использовании только одной последовательности вследствие потери чувствительности к тяжелой перегрузке железом, которая характеризуется небольшим временем релаксации [21].

Главным преимуществом данной методики является простота ее выполнения и наименьшее количество постобработки. Ограничениями служат невозможность точной оценки перегрузки железом свыше 19,5 мг/г сухого веса, завышение значений концентрации железа у пациентов с легкой и умеренной перегрузкой железом печени, а также возможные патологические изменения эталонных тканей, например параспинальных мышц [24].

Метод релаксометрии

Метод релаксометрии включает в себя расчет карт T2 или R2 (спин-эхо-последовательность) и T2* или R2* (GRE-последовательность) путем получения нескольких изображений с TE [25].

T2*-релаксация лежит в основе многих МР-методов визуализации, например изображений, взвешенных по магнитной восприимчивости (SWI), перфузионных изображений, функциональной МРТ. T2*-режим используется для визуализации кровотоков, кальцинатов, отложений железа в различных тканях и областях интереса. Под действием радиочастотного импульса вектор намагниченности поворачивается в поперечную плоскость [27]. В последовательности GRE нет рефокусированного 180° импульса и, соответственно, нет возможности избавиться от эффекта расфазировки. Таким образом, поперечную релаксацию в последовательностях GRE (т. е. T2*-релаксацию) можно рассматривать как сочетание «истинной» T2-релаксации и релаксации, обусловленной неоднородностью магнитного поля.

Таблица 1

Метод SIR по протоколу Y. Gandon и соавт. [16]. Представлены параметры последовательностей: T1-ВИ, PD-ВИ, T2-ВИ, T2*-ВИ – с большим TE и T2**+ВИ – с очень большим TE для определения содержания железа в печени

Table 1

SIR method according to the research of Y. Gandon et al. [16]. The table shows the parameters of the sequences for the liver iron assessment: T1-WI, PD-WI (proton-weighted image), T2-WI, T2*-WI – with a high TE (echo time) and T2**+WI – with a highly TE)

GRE-последовательность GRE-sequences	TR, мс TR, ms	TE, мс TE, ms	PA (°)
T1-ВИ T1-WI	120	4	90
PD-ВИ PD-WI	120	4	20
T2-ВИ T2-WI	120	9	20
T2*-ВИ T2*-WI	120	14	20
T2**+ВИ T2**+WI	120	21	20

В основе получения релаксометрических изображений лежит последовательность мультифазного GRE с малыми параметрами времени повторения (TR) и TE, благодаря которым получаются изображения с низкими сигналом и контрастом, а получение изображения занимает менее 1 сек. Первым подается 180° инвертирующий импульс и далее несколько дополнительных частичных радиочастотных (РЧ) импульсов (α) для возбуждения протонов, повторяющихся в зависимости от заданных параметров за 1 период TR. Использование частичных РЧ-сигналов сокращает длительность возбуждающих импульсов и время считывания, что уменьшает общее время сканирования. Быстрый мультипланарный режим позволяет получать данные для нескольких срезов в течение 1 периода TR.

Методики подсчета железа, основанные на T2*-релаксации, быстрее и более чувствительны к низким концентрациям железа, чем T2-релаксации, но имеют больше артефактов восприимчивости [21, 26]. Количественную оценку содержания железа методом релаксометрии можно проводить путем расчета значений времен релаксации T2 и T2* или их скоростей – R2 и R2* соответственно, которые являются обратными величинами значений времен релаксации.

Метод релаксометрии для расчета T2*-карт печени и миокарда впервые был предложен L.J. Anderson и соавт. и заключался в получении изображений с градиентным эхом при 8 различных TE [14]. На рисунке 3 представлен способ получения изображений с использованием последовательности T2*-GRE при 16 различных TE.

Визуализация отложений железа, основанная на принципах МР-релаксометрии, заключается в измерении значения T2*-релаксации в ROI путем получения нескольких T2*-ВИ одного и того же среза, но с

различными значениями TE. Значение времени T2*-релаксации зависит от начала и скорости расфазировки вектора суммарной поперечной намагниченности. Скорость расфазировки вектора суммарной намагниченности зависит от нескольких факторов: спин-спинового взаимодействия, магнитной восприимчивости, эффекта химического сдвига, неоднородности магнитного поля. Взаимодействие между высокомолекулярными комплексами железа (например, ферритином и гемосидерином) и молекулами воды приводит к ускорению расфазировки вектора суммарной поперечной намагниченности, что ведет к потере интенсивности МР-сигнала в ткани.

Преимущество данной методики заключается в том, что существует доказанная многими авторами линейная корреляция между значениями скорости релаксации R2* и LIC, полученной атомно-абсорбционным исследованием содержания железа в биоптате печени. Это делает T2*-релаксometriю надежной методикой неинвазивной количественной оценки перегрузки железом печени (рисунки 4) [28–30].

Однако, как и у описанных ранее методик, у T2*-релаксometriи есть ограничение по минимальному первому времени эхо, которое не позволяет точно определить перегрузку железом печени при LIC более 25 мг/г сухого веса [26]. Это ограничение растет с увеличением напряженности постоянного магнитного поля, которое укорачивает время T2*-релаксации [30]. Последовательности с ультракороткими TE позволяют обойти это ограничение,

Таблица 2

Стадирование перегрузки железом по данным 1,5T и 3T МР-томографов, основанное на корреляции интенсивности сигнала (T2*-значений) и LIC по исследованию биоптата печени у пациентов с различной степенью перегрузки железом (собственные данные авторов, LIC – по данным P.T. Telfer и соавт. [32])

Table 2

Staging of the iron overload according to the data of 1.5T and 3T MRI scanners, based on the correlation of MR signal intensity (T2* values) and LIC by liver biopsy study of a patients with different grades of iron overload (authors' own data, LIC according to P.T. Telfer, et al. [32])

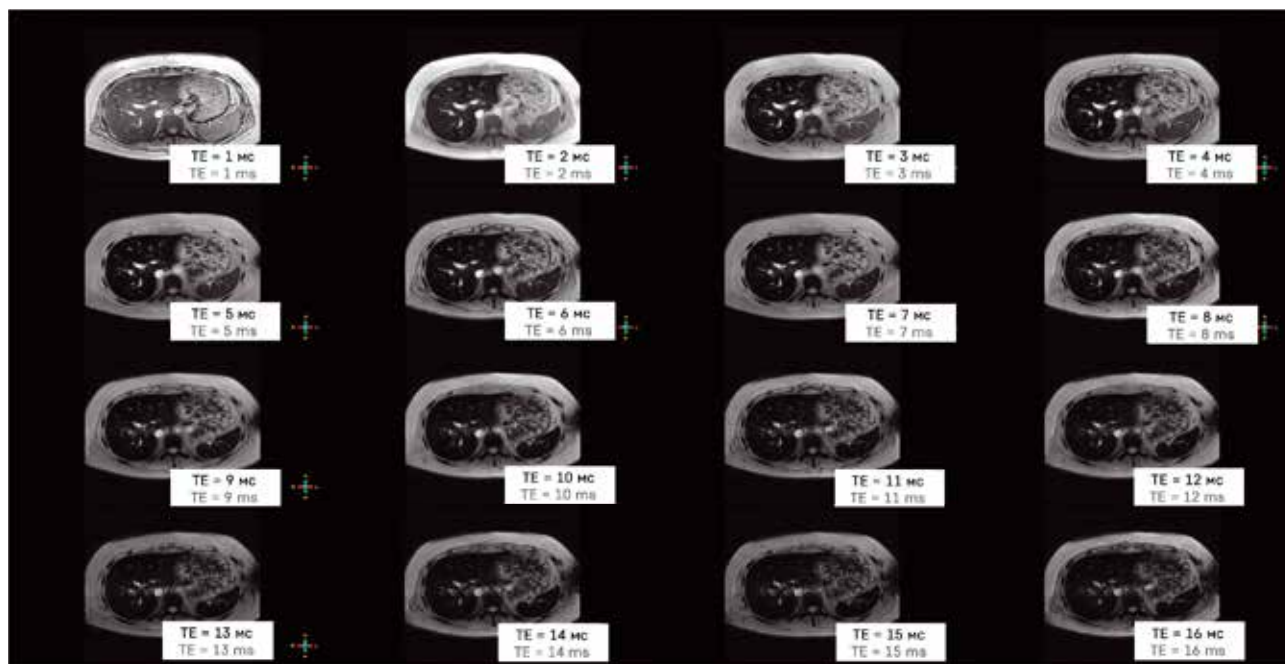
Гистологическая степень гемосидероза печени Histological grade of hepatic hemosiderosis	T2*, мс T2*, ms	LIC, мг/г сухого веса (по результатам исследования биоптата печени [32]) LIC, mg/g dry weight (according to liver biopsy findings [32])
Для 1,5T МР-томографа For 1.5T MRI scanner		
Степень 1 Grade 1	8–20	0,1–2,0
Степень 2 Grade 2	4–8	2,0–7,0
Степень 3 Grade 3	2–4	7,0–15,0
Степень 4 Grade 4	0–2	> 15
Для 3T МР-томографа For 3T MRI scanner		
Степень 1 Grade 1	> 7	0,1–2,0
Степень 2 Grade 2	2,5–7	2,0–7,0
Степень 3 Grade 3	1–2,5	7,0–15,0
Степень 4 Grade 4	0–1	> 15

Рисунок 3

Перегрузка железом печени. Аксиальные T2*-GRE-изображения, полученные с TE от 1 до 16 мс. Отмечается снижение интенсивности сигнала в печени с увеличением TE, что свидетельствует о перегрузке железом (собственные данные авторов)

Figure 3

Liver iron overload. Axial T2*-GRE images generated with TE from 1 up to 16 ms. The decrease of signal intensity in the liver with an increase of TE may indicate the iron overload (authors' own data)



что делает их пригодными для оценки в том числе и тяжелой перегрузки железом печени – LIC более 25 мг/г сухого веса [31].

Практическое применение количественной магнитно-резонансной томографии в оценке перегрузки железом

Методы количественного определения содержания железа при помощи МРТ могут использоваться для оценки мониторинга избыточного железа в печени и корректирования проводимой хелаторной терапии. На рисунке 5 представлен пример эффективного применения хелаторной терапии и ее контроль с помощью T2*-релаксометрии. Мониторинг

Рисунок 4

Калибровочная прямая между значениями LIC, полученными методом релаксометрии, и исследованием содержания железа в биоптате печени для 55 пациентов (заимствовано из статьи Э.Э. Назаровой и соавт. [28])

Figure 4

The calibration line of the LIC values obtained by the relaxometry method and liver biopsy data for iron assessment based on the results of 55 patients (adapted from the article of E.E. Nazarova et al. [28])

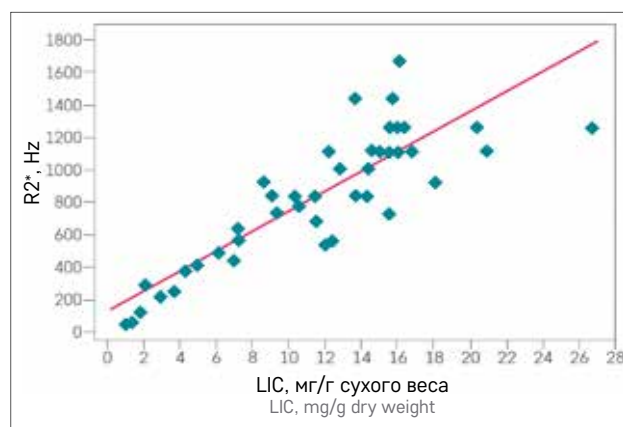
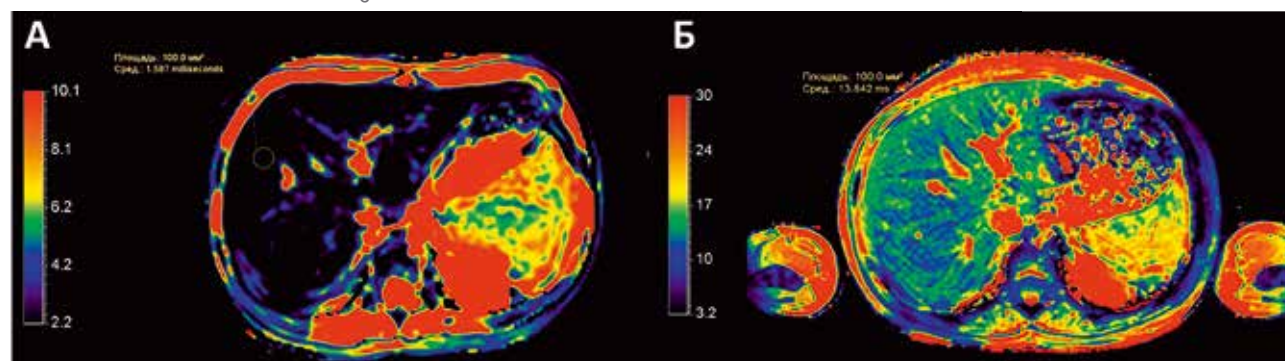


Рисунок 5

Положительный эффект применения хелаторной терапии в течение 3 лет у пациентки с бета-талассемией. Представлены релаксометрические изображения с 3Т МР-томографа: А – релаксометрическая карта печени до лечения, T2* = 1,6 мс, что соответствует перегрузке железом умеренной степени (grade 3); Б – релаксометрическая карта печени после лечения, T2* = 13,8 мс, перегрузка железом отсутствует (grade 1). Собственные данные авторов

Figure 5

A positive effect of chelation therapy administered for 3 years in a patient with beta-thalassemia. Relaxometric maps of 3T MRI scanners are presented: A – relaxometric map of the liver before the chelation therapy, T2* = 1.6 ms, which is relating to moderate iron overload (grade 3); Б – relaxometric map of the liver after the chelation therapy, T2* = 13.8 ms, no iron overload (grade 1). Authors' own data



перегрузки железом рекомендован пациентам, находящимся на регулярной трансфузионной терапии, и в настоящий момент основан на оценке LIC по данным МРТ (таблица 2). В таблице 2 представлено стадирование перегрузки железом по данным 1,5Т и 3Т МР-томографов, используемое в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, основанное на исследовании корреляции интенсивности сигнала (T2*-значений) и LIC биоптата печени у пациентов с различной степенью перегрузки железом [28].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

МРТ – неинвазивный и легкодоступный метод количественного определения содержания железа в органах и тканях. МРТ позволяет проводить комплексную оценку железа во всем органе, а за счет неинвазивности – без риска возникновения послеоперационных осложнений.

Метод SIR быстрее, чем метод релаксометрии, но лишен широкого спектра оценки содержания железа и менее точен.

Таким образом, МРТ-релаксометрия является методом выбора для количественной оценки содержания железа в органах.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Nazarova E.E. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0014-9345>

Kupriyanov D.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5662-896X>

Novichkova G.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>

Tereshchenko G.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7317-7104>

Литература

1. Brittenham G.M., Badman D.G. Noninvasive measurement of iron: Report of an NIDDK workshop. *Blood* 2003; 101 (1): 15–9. DOI: 10.1182/blood-2002-06-1723
2. Hanson E.H., Imperatore G., Burke W. *HFE* gene and hereditary hemochromatosis: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2001; 154 (3): 193–206. DOI: 10.1093/aje/154.3.193
3. Siegelman E.S., Mitchell D.G., Rubin R., Hann H.W., Kaplan K.R., Steiner R.M., et al. Parenchymal versus reticuloendothelial iron overload in the liver: distinction with MR imaging. *Radiology* 1991; 179 (2): 361–6. DOI: 10.1148/radiology.179.2.2014275
4. Kondur A.K., Li T., Vaitkevicius P., Afonso L. Quantification of myocardial iron overload by cardiovascular magnetic resonance imaging T2* and review of the literature. *Clin Cardiol* 2009; 32 (6): E55–9. DOI: 10.1002/clc.20310
5. Alustiza J.M., Artetxe J., Castiella A., Agirre C., Emparanza J.I., Otazua P., et al. MR quantification of hepatic iron concentration. *Radiology* 2004; 230 (2): 479–84. DOI: 10.1148/radiol.2302020820
6. Au W.-Y., Lam W.W.-M., Chu W., Tam S., Wong W.-K., Liang R., Ha S.-Y. A T2* magnetic resonance imaging study of pancreatic iron overload in thalassemia major. *Haematologica* 2008; 93 (1): 116–9. DOI: 10.3324/haematol.11768
7. Wood J.C., Noetzel L., Hyderi A., Joukar M., Coates T., Mittelman S. Predicting pituitary iron and endocrine dysfunction. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2010; 1202: 123–8. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2010.05545.x
8. Bacon B.R., Adams P.C., Kowdley K.V., Powell L.W., Tavill A.S. Diagnosis and management of hemochromatosis: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2011; 54 (1): 328–43. DOI: 10.1002/hep.24330
9. Villeneuve J.-P., Bilodeau M., Lepage R., Côté J., Lefebvre M. Variability in hepatic iron concentration measurement from needle-biopsy specimens. *J Hepatol* 1996; 25 (2): 172–7. DOI: 10.1016/s0168-8278(96)80070-5
10. Stark D.D., Bass N.M., Moss A.A., Bacon B.R., McKerrow J.H., Cann C.E., et al. Nuclear magnetic resonance imaging of experimentally induced liver disease. *Radiology* 1983; 148 (3): 743–51. DOI: 10.1148/radiology.148.3.6192464
11. Gomori J.M., Horev G., Tamary H., Zandback J., Kornreich L., Zaizov R., et al. Hepatic iron overload: quantitative MR imaging. *Radiology* 1991; 179 (2): 367–9. DOI: 10.1148/radiology.179.2.2014276
12. Hernando D., Levin Y.S., Sirlin C.B., Reeder S.B. Quantification of liver iron with MRI: state of the art and remaining challenges. *J Magn Reson Imaging* 2014; 40 (5): 1003–21. DOI: 10.1002/jmri.24584
13. Rocchi E., Cassanelli M., Borghi A., Pao-lillo F., Pradelli M., Casalgrandi G., et al. Magnetic resonance imaging and different levels of iron overload in chronic liver disease. *Hepatology* 1993; 17 (6): 997–1002.
14. Anderson L.J., Holden S., Davis B., Prescott E., Charrier C.C., Bunce N.H., et al. Cardiovascular T2-star (T2*) magnetic resonance for the early diagnosis of myocardial iron overload. *Eur Heart J* 2001; 22 (23): 2171–9. DOI: 10.1053/euhj.2001.2822
15. St Pierre T.G., Clark P.R., Chua-Anusorn W. Single spin-echo proton transverse relaxometry of iron loaded liver. *NMR Biomed* 2004; 17 (7): 446–58. DOI: 10.1002/nbm.905
16. Gandon Y., Olivie D., Guyader D., Aube C., Oberti F., Sebille V., et al. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *Lancet* 2004; 363 (9406): 357–62. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)15436-6
17. Wood J.C., Enriquez C., Ghugre N., Tyzka J.M., Carson S., Nelson M.D., et al. MRI R2 and R2* mapping accurately estimates hepatic iron concentration in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease patients. *Blood* 2005; 106 (4): 1460–5. DOI: 10.1182/blood-2004-10-3982
18. Cario H., Grosse R., Janssen G., Jarisch A., Meerpohl J., Strauss G. Guidelines for diagnosis and treatment of secondary iron overload in patients with congenital anemia. *Klin Padiatr* 2010; 222 (6): 399–406. DOI: 10.1055/s-0030-1265178
19. Akhan O., Akpinar E., Karcaaltincaba M., Haliloglu M., Akata D., Karaosmanoglu A.D., et al. Imaging findings of liver involvement of Wilson's disease. *Eur j radiol* 2009; 69 (1): 147–55. DOI: 10.1016/j.ejrad.2007.09.029
20. Chavhan G.B., Babyn P.S., Thomas B., Shroff M.M., Haacke E.M. Principles, techniques, and applications of T2*-based MR imaging and its special applications. *Radiographics* 2009; 29 (5): 1433–49. DOI: 10.1148/rg.295095034
21. Argyropoulou M.I., Astrakas L. MRI evaluation of tissue iron burden in patients with β -thalassaemia major. *Pediatr Radiol* 2007; 37 (12): 1191–200. DOI: 10.1007/s00247-007-0567-1
22. Labranche R., Gilbert G., Cerny M., Vu K.-N., Soulières D., Olivie D., et al. Liver iron quantification with MR imaging: a primer for radiologists. *Radiographics* 2018; 38 (2): 392–412. DOI: 10.1148/rg.2018170079
23. Hernandez R.J., Sarnaik S.A., Lande I., Aisen A.M., Glazer G.M., Chenevert T., et al. MR evaluation of liver iron overload. *J comput assis tomogr* 1988; 12 (1): 91–4. DOI: 10.1097/00004728-198801000-00017
24. Paisant A., Boulic A., Bardou-Jacquet E., Bannier E., D'assignies G., Lainé F., et al. Assessment of liver iron overload by 3T MRI. *Abdom Radiol (NY)* 2017; 42 (6): 1713–20. DOI: 10.1007/s00261-017-1077-8
25. Carneiro A.A.O., Vilela G.R., De Araujo D.B., Baffa O. MRI relaxometry: methods and applications. *Braz J Phys* 2006; 36 (1A): 9–15.
26. Serai S.D., Fleck R.J., Quinn C.T., Zhang B., Podberesky D.J. Retrospective comparison of gradient recalled echo R2* and spin-echo R2 magnetic resonance analysis methods for estimating liver iron content in children and adolescents. *Pediatr Radiol* 2015; 45 (11): 1629–34. DOI: 10.1007/s00247-015-3378-9
27. Ринк П.А. Магнитный резонанс в медицине: основной учебник Европейского форума по магнитному резонансу. М.: ГЭОТАР-МЕД; 2003.
28. Назарова Э.Э., Терещенко Г.В., Абакумов М.А., Сманцер В.А., Куприянов Д.А., Сметанина Н.С. Методика проведения T2*-картирования печени у пациентов с вторичной перегрузкой железом. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2017; 16 (3): 23–7. DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-3-23-27
29. Wood J.C. Guidelines for quantifying iron overload. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2014; 2014 (1): 210–5. DOI: 10.1182/asheducation-2014.1.210
30. Назарова Э.Э., Терещенко Г.В., Куприянов Д.А., Сметанина Н.С., Новичкова Г.А.. 1,5T или 3T – что выбрать на первом этапе оценки перегрузки железом печени у детей? *Российский электронный журнал лучевой диагностики* 2020; 10 (1): 124–32. DOI: 10.21569/2222-7415-2020-10-1-124-132
31. Krafft A.J., Loeffler R.B., Song R., Tipirneni-Sajja A., McCarville M.B., Robson M.D., et al. Quantitative ultrashort echo time imaging for assessment of massive iron overload at 1.5 and 3 Tesla. *Mag Reson Med* 2017; 78 (5): 1839–51. DOI: 10.1002/mrm.26592
32. Telfer P.T., Prestcott E., Holden S., Walker M., Hoffbrand A.V., Wonke B. Hepatic iron concentration combined with long-term monitoring of serum ferritin to predict complications of iron overload in thalassaemia major. *Br J Haematol* 2000; 110 (4): 971–7. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2000.02298.x

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 24.08.2020
Принята к печати 04.09.2020

Контактная информация:

Бакиров Булат Ахатович,
д-р. мед. наук, доцент, заведующий
кафедрой госпитальной терапии №2
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России
Адрес: 450075, Уфа, ул. Блюхера, 3
E-mail: bakirovb@gmail.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-164-172

Современные и разрабатываемые биотехнологические препараты для лечения патологии системы комплемента при пароксизмальной ночной гемоглобинурии

Д.А. Кудлай^{1,2}, Б.А. Бакиров³, В.Н. Павлов³

¹ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

²АО «ГЕНЕРИУМ», Москва

³ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) – это редкое приобретенное клональное заболевание крови, развивающееся в результате соматической мутации гена фосфатидилинозитол гликана класса А (*PIG-A*) в стволовых кроветворных клетках и проявляющееся гемолитической анемией, костномозговой недостаточностью, тромбозами, нарушением функции почек и другими тяжелыми клиническими синдромами. Лечение ПНГ является сложной клинической задачей, требующей комплексного подхода. В последнее десятилетие таргетная терапия с применением ингибитора терминального этапа активации комплемента антитела экулизумаб играет ключевую роль в лечении ПНГ. Экулизумаб является первым гуманизированным моноклональным анти-C5-антителом, подтвердившим эффективное ингибирование системы комплемента и одобренным во многих странах в качестве стандарта лечения ПНГ. С 2019 г. в Российской Федерации широко используется для лечения ПНГ первый биоаналог экулизумаба (Элизария), подтвердивший в ходе клинических исследований аналогичные оригинальному препарату эффективность и безопасность. В настоящее время продолжаются разработки новых препаратов ингибиторов комплемента, которые подразделяются по механизму действия на ингибиторы C5-компонента комплемента (терминальная часть) и ингибиторы ранних фаз каскада комплемента (проксимальная часть). К новым препаратам относятся моноклональные антитела, малые молекулы, небольшие пептидные ингибиторы и малые интерферирующие РНК, а также рекомбинантные белки, полученные на основе эндогенных регуляторов активации комплемента.

Ключевые слова: система комплемента, пароксизмальная ночная гемоглобинурия, комплемент-опосредованный гемолиз, антикомплемментарная терапия, экулизумаб, биоаналоги, моноклональные антитела

Кудлай Д.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 164–172.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-164-172

Biotechnological products for the treatment of complement system disorders including paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: currently available and in development

D.A. Kudlay^{1,2}, B.A. Bakirov³, V.N. Pavlov³

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (the Sechenov University), Moscow

²JSC GENERIUM, Moscow

³Bashkir State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ufa

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a rare acquired clonal blood disorder caused by somatic mutations in phosphatidylinositol glycan, class A gene (*PIG-A*) in hematopoietic stem cells which manifests as haemolytic anemia, bone marrow failure, thromboses, impaired renal function, and other severe clinical symptoms. The management of PNH is a clinical challenge requiring a comprehensive approach. Over the past decade, target therapy with eculizumab, an antibody inhibitor of terminal complement activation, has played a key role in the treatment of PNH. Eculizumab is the first humanized anti-C5 monoclonal antibody that was proven effective in inhibiting the complement system and was approved as a standard treatment for PNH in many countries. Elizaria, the first biosimilar version of eculizumab, whose similarity to the original drug in terms of efficacy and safety was demonstrated in clinical trials, has been widely used in Russia since 2019. New complement inhibitors classified by their mechanism of action into inhibitors targeting complement component C5 (the terminal pathway) and those targeting early phases of complement activation cascade (the proximal pathway) are currently in development. These new drugs include monoclonal antibodies, small molecules, small peptide inhibitors, small interfering RNA, and recombinant proteins based on endogenous regulators of complement activation.

Key words: complement system, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, complement-mediated hemolysis, anti-complement therapy, eculizumab, biosimilars, monoclonal antibodies

Kudlay D.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 164–172.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-164-172

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPOH»

Received 24.08.2020

Accepted 04.09.2020

Correspondence:

Bulat A. Bakirov,
Dr. med. sci., Associate Professor, Head
of Department of Hospital Therapy №2
of Bashkir State Medical University
of the Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: Russia, 450075, Ufa,
Blukhera st., 3
E-mail: bakirovb@gmail.com

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) – это редкое приобретенное клональное заболевание крови, развивающееся в результате соматической мутации гена фосфатидилинозитол гликана класса А (PIG-A) в стволовых кроветворных клетках [1]. ПНГ проявляется гемолитической анемией, костномозговой недостаточностью, тромбозами, нарушением функции почек и другими тяжелыми клиническими синдромами [1–3]. Заболеваемость ПНГ составляет примерно 1–1,5 случая на 1 млн человек в мире и преимущественно выявляется у людей в возрасте от 30 до 59 лет [4]. Классическая гемолитическая форма ПНГ может проявляться в любом возрасте с пиком в 30–40 лет с одинаковой частотой у женщин и мужчин. Медиана возраста больных на момент установки диагноза составляет 42 года [5].

Соматическая мутация в X-сцепленном гене *PIG-A* одного или нескольких клонов гемопоэтических стволовых клеток при ПНГ приводит к снижению биосинтеза гликозилфосфатидилинозитола, связывающего с мембраной клетки белки, в частности CD55 и CD59, ингибирующие образование мембраноатакующего комплекса (МАК) и активацию C3-конвертазы системы комплемента [6]. Отсутствие этих связанных с мембраной белков нарушает регуляцию системы комплемента, что приводит к лизису эритроцитов под воздействием МАК, а также комплемент-зависимой агрегации и активации тромбоцитов [7, 8].

Анемия при ПНГ часто является многофакторной и может быть результатом сочетания гемолиза и недостаточности костного мозга. Внутрисосудистый гемолиз с умеренной или тяжелой анемией, выраженный ретикулоцитоз и увеличение до 10-кратного активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) являются характерными проявлениями классической ПНГ, в ряде случаев сочетающихся с гемоглобинурией [2, 9]. Тромбоз приводит к тяжелым клиническим состояниям и является наиболее распространенной причиной смертности при ПНГ [10]. Тромбоз при ПНГ может быть различной локализации, однако венозный тромбоз встречается чаще, чем артериальный. Часто тромбообразование затрагивает внутрибрюшные (печеночный, порталый, брыжеечный, селезеночный и т. д.) и церебральные (сагиттальный и кавернозный синусы) вены, при этом тромбоз печеночных вен (синдром Бадда–Киари) является наиболее распространенным вариантом при ПНГ. Тромбоз глубоких вен, легочная эмболия и тромбоз кожи также относительно распространены [2, 11]. Тромбоэмболические осложнения являются основной и непосредственной причиной смерти у больных ПНГ, составляя 40–67% летальных исходов. Профилактическое назначение варфарина является недостаточным, и было показано, что тромботиче-

ские эпизоды выявляются примерно в 10 случаях на 100 пациентов в год [10, 12].

Прямым следствием внутрисосудистого гемолиза и высвобождения свободного гемоглобина при ПНГ является появление симптомов дистонии гладкой мускулатуры в виде боли в животе, спазма пищевода, дисфагии и эректильной дисфункции. Механизм нарушения тонуса гладкой мускулатуры связан с замедлением утилизации свободного гемоглобина, который при накоплении приводит к истощению запасов оксида азота (II) (NO). Дефицит NO в результате накопления свободного гемоглобина способствует дисрегуляции тонуса гладких мышц, а также активации тромбоцитов [2, 13]. Боли в животе могут быть вызваны ишемией и тромбозами мезентериальных сосудов, часто выявляются осложнения в виде легочной гипертензии, а также возможно развитие почечной недостаточности [14, 15].

Возможно, генетические факторы могут играть более важную роль в развитии заболевания и тромбоэмболических осложнений, чем факторы образа жизни у пациентов, что подтверждается результатами исследования отличий клинических характеристик между больными ПНГ азиатской и неазиатской рас. Азиатская когорта имела значительно более высокий размер клона ПНГ в гранулоцитах, более высокие уровни ЛДГ и более низкий уровень гемоглобина. Однако частота клинических проявлений, включая боли в животе и спине, легкое кровотечение, усталость, головную боль в начале исследования и частоту тромбоэмболии, была значительно ниже в азиатской, чем в неазиатской когорте ($p < 0,01$) [16].

Таргетное ингибирование системы комплемента

В настоящее время таргетное ингибирование терминального этапа активации комплемента с помощью анти-C5-моноклонального антитела (экулизумаб) играет ключевую роль в лечении ПНГ [17]. Гуманизированное моноклональное антитело экулизумаб стало первым эффективным ингибитором комплемента, одобренным Европейским агентством по лекарственным средствам (ЕМА) и Управлением по контролю качества пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) в качестве стандарта лечения ПНГ с 2007 г. [18, 19].

С 2019 г. в Российской Федерации начал широко использоваться в клинической практике первый биоаналог экулизумаба (Элизария) [20, 21]. В ходе проведенных клинических исследований были установлены сопоставимость фармакокинетических параметров и концентрации МАК на фоне лечения Элизарией и оригинальным препаратом, а также одинаковый профиль безопасности и иммуногенности. При сравнительной оценке эффективности средние значения LDH AUC составили $62957,6 \pm 46066,5$ Ед/л*дней

(95% доверительный интервал (ДИ) (38410,4; 87504,7)) в группе исследуемого препарата и $49702,6 \pm 26182,1$ Ед/л*дней (95% ДИ (34585,5; 64819,7)) в группе оригинального препарата. При межгрупповом сравнении статистически значимых отличий по LDH AUC и другим параметрам оценки эффективности выявлено не было ($p > 0,05$) [22]. Также эффективность биоаналогичного препарата подтверждалась стойким снижением концентрации МАК и 4-кратным уменьшением средних значений ЛДГ в течение 1 мес с 1286,4 до 280,9 Ед/л, сопровождаясь выраженным снижением активности гемолитического процесса на фоне индукции терапии в дозе 600 мг 1 раз в неделю [23]. Результаты проведенных исследований подтвердили биоаналогичность Элизарии оригинальному препарату в соответствии с современными регуляторными требованиями [24].

Новое поколение антикомплементарных лекарственных средств для лечения пароксизмальной ночной гемоглобинурии

Клиническая разработка экулизумаба для лечения ПНГ, а затем и других заболеваний была уникальным опытом с точки зрения как научного, так и практического успеха. Этот растущий интерес в области терапии комплемента породил серию доклинических и клинических программ для разработки новых антикомплементарных препаратов. Терапевтические агенты, влияющие на активность комплемента, могут быть сгруппированы на основе различных факторов. Можно выделить 2 основных класса ингибиторов комплемента: ингибиторы C5-компонента комплемента (терминальной части) и ингибиторы ранних фаз каскада комплемента (проксимальной части), нацеленные либо на ключевое звено каскада (расщепление C3-компонента), либо на специфичные пути, инициирующие систему комплемента при ПНГ, включающие белки альтернативного пути, такие как фактор комплемента D, фактор В и пропердин. Эти ингибиторы проксимальной части включают моноклональные антитела, малые соединения, а также рекомбинантные белки, полученные на основе эндогенных регуляторов активации комплемента [25].

Новые ингибиторы терминальной части комплемента

В настоящее время в разработке находится группа новых анти-C5-агентов в дополнение к биоаналогам экулизумаба, исследование которых было начато для оценки их эффективности в лечении ПНГ. Большинство из них представляют собой моноклональные антитела, такие как экулизумаб, но в этот список входят также небольшие пептидные ингибиторы и малые интерферирующие РНК [25].

Разработка данных препаратов имеет своей целью выявление преимуществ в сравнении с экулизумабом, а также решение других клинических задач, в основном касающихся качества жизни пациента за счет уменьшения кратности инфузий при увеличении интервала между введениями и/или переключения с внутривенного пути введения препарата на подкожный или пероральный [25, 26].

ALXN1210 (равулизумаб, Alexion) является первым из терапевтических ингибиторов комплемента второго поколения и представляет собой другое анти-C5-моноклональное антитело, которое было получено путем специфических аминокислотных модификаций экулизумаба в целях улучшения его фармакокинетического профиля [27]. Равулизумаб – новое анти-C5-моноклональное антитело с режимом внутривенного введения каждые 8 нед было исследовано у пациентов с ПНГ, ранее не получавших терапию экулизумабом, а также у ранее леченных пациентов [28, 29]. Новый ингибитор C5-компонента системы комплемента равулизумаб разрешен к применению в США, Европе и Японии для терапии ПНГ.

В исследование III фазы (ALXN1210-PNH-302; NCT03056040) были включены взрослые пациенты, получавшие терапию экулизумабом более 6 мес и с уровнем ЛДГ в $\leq 1,5$ раза выше верхней границы нормы [30]. Первая группа (E-R) получала препарат экулизумаб в основной период исследования с последующим переходом на равулизумаб через 26 нед терапии в период продления (extension). Вторая группа (R-R) получала равулизумаб в течение всех 52 нед. У пациентов оценивали изменение уровня ЛДГ, явления прорывного гемолиза, эпизоды трансфузий, улучшение по шкале FACIT-Fatigue, а также изменение уровня C5 в плазме и осложнения, связанные с терапией. По результатам исследования из 192 пациентов, получавших терапию, 191 человек был переведен в период продления исследования. Повышение уровня ЛДГ в группах E-R и R-R отмечено в 5,8% и 8,8% случаев соответственно. В группе R-R явления прорывного гемолиза в период 0–26 нед не были выявлены, в период 27–52 нед было отмечено 3 эпизода. В группе E-R у 5 пациентов наблюдались явления прорывного гемолиза в период 0–26 нед, в период 27–52 нед, когда пациенты были переведены на терапию равулизумабом, был отмечен только 1 эпизод. Анализ необходимости в трансфузиях и оценка шкалы FACIT-Fatigue не показали существенных отличий в обеих группах. Наиболее частыми осложнениями, связанными с терапией, в группе R-R были инфекция органов дыхания – 9%, головная боль и назофарингиты – 6%. В группе E-R: головная боль – 10%, инфекции органов дыхания – 8%, назофарингит – 7%. У 8% пациентов в группе R-R и у

5% больных в группе E-R выявлены серьезные нежелательные явления, не приведшие к летальному исходу и перерыву в терапии. В исследовании было установлено, что данный ингибитор C5-компонента системы комплемента не уступает экулизумабу по влиянию на активность системы комплемента, контролю гемолиза, клиническим исходам и частоте развития прорывного гемолиза. Переносимость и безопасность равулизумаба существенно не отличались от таковых при применении экулизумаба [29, 30].

SKY59 (R0711268/ кровалимаб, Roche) – это еще одно анти-C5-моноклональное антитело длительного действия, созданное с использованием технологии SMART-Ig, которое использует pH-зависимое связывание с мишенью C5, что в конечном итоге приводит к глубокой рециркуляции моноклонального антитела [31, 32]. Это моноклональное антитело было получено в целях использования остатков гистидина для достижения pH-зависимого связывания с антигеном, что в конечном итоге способствует диссоциации иммунного комплекса в компартменте лизосом с низким pH через изменения поверхностного заряда моноклонального антитела [32]. При этом повышенная диссоциация способствует разложению C5-компонента комплемента, высвобождению в лизосомы. Тем самым предотвращается накопление C5-компонента, обычно наблюдаемое при терапии экулизумабом и рециркуляции антитела в плазму посредством его распознавания FcRn. Спроектированное моноклональное антитело SKY59, генерируемое с помощью этой технологии, имеет гораздо более длительный период полураспада *in vivo* у обезьян *Cynomolgus*, что обеспечивает устойчивую блокаду C5 даже после подкожного введения. Поскольку SKY59 связывает эпитопы C5, отличные от экулизумаба, было показано, что SKY59 эффективно блокирует даже полиморфный C5-вариант R885H, по крайней мере, *in vitro* [31]. Взятые вместе результаты из частей 2 и 3 продемонстрировали, что SKY59 является эффективным ингибитором C5 с превосходной биодоступностью после подкожного введения небольшого объема при использовании еженедельно или даже с более длительными интервалами [33]. Концентрация гемоглобина повысилась, по крайней мере, на 10 г/л у не леченных пациентов и оставалась стабильной у пациентов, переходящих с экулизумаба. Наблюдалось несколько эпизодов прорывного внутрисосудистого гемолиза, в основном связанных с сопутствующими событиями, запускающими активацию комплемента. Интересно, что в отличие от свободного C5-компонента, содержание общего C5 в плазме крови значительно изменялось во время лечения, в то время как у не леченных пациентов наблюдалось повышение концентрации со

140 (73,6–184) мкг/мл до 215 (109–331) мкг/мл, у пациентов, переходящих с экулизумаба, наблюдалось ее снижение с 295 (205–354) мкг/мл до 228 (184–305) мкг/мл [33]. Эти данные, хотя и предварительные, по-видимому, демонстрируют специфическую активность по утилизации C5 для SKY59 по сравнению с экулизумабом, однако следует признать, что в этом исследовании общее содержание C5, наблюдаемое на терапии экулизумабом, оказалось довольно высоким по сравнению с тем, что отмечалось в других исследованиях [34].

Ожидается, что способность увеличить контроль C5-компонента комплемента, благодаря применению технологии SMART-Ig, приведет к улучшению контроля прорывного гемолиза у пациентов с ПНГ по сравнению с антителами без этой технологии. Для растворимых мишеней этот подход обеспечивает более строгие критерии, чем концентрация антител, поскольку он определяет способность лекарственного средства связывать свободную мишень в любое время. Следовательно, эта способность должна оказаться полезной для определения дозы моноклональных антител, связывающих растворимую мишень [35].

Для оценки безопасности, фармакокинетики, фармакодинамики и эффективности у здоровых добровольцев, наивных (ранее не леченных) пациентов и лиц с ПНГ, ранее получавших терапию, провели открытое исследование фазы I/II. В исследование были включены 29 пациентов. Концентрация SKY59 превышала предварительно заданную концентрацию 100 мкг/мл, результатом чего стало полное и устойчивое ингибирование пути терминального комплемента как у больных, ранее получавших терапию экулизумабом, так и у наивных пациентов. Безопасность соответствовала известному профилю ингибирования C5-компонента комплемента. Как и ожидалось, образование лекарств-мишеней лекарственных комплексов (DTDC) наблюдалось у всех 19 пациентов, переходивших на SKY59, что проявлялось в преходящих мягких или умеренных васкулитных кожных реакциях у 2 пациентов. Оба события разрешены при продолжении лечения кровалимабом. Препарат назначали подкожно 680 мг (4 мл), вводили 1 раз каждые 4 нед, что обеспечило полное и длительное ингибирование конечного пути комплемента у пациентов с ПНГ [36].

LFG316 (Novartis) также является анти-C5-моноклональным антителом. Эта молекула в настоящее время исследуется у наивных пациентов с ПНГ в рамках исследования фазы II [37]. Данное исследование проводится у пациентов с ПНГ, резистентных к экулизумабу из-за полиморфизма C5 – R885H [38]. LFG316 первоначально разрабатывалось для местного применения при возрастной макулярной

дегенерации, однако дополнительные результаты исследований, например фармакокинетика LFG316 после системного введения, а также предварительные результаты клинического исследования пока не опубликованы.

REGN3918 (Regeneron) является анти-C5-моноклональным антителом, которое связывает как дикий тип, так и вариант R885H человеческого C5. В I фазе клинического исследования на здоровых добровольцах REGN3918 хорошо переносился и приводил к дозозависимому ингибированию конечного пути комплемента, оцениваемого по гемолитической активности (CH50). Этот препарат демонстрирует благоприятный профиль фармакокинетики, так как он обладает хорошей биодоступностью даже после подкожного введения. Однократная внутривенная нагрузочная доза с последующим еженедельным подкожным введением приводила к длительному ингибированию активности C5-компонента комплемента [39]. В настоящее время запланированы дальнейшие исследования у пациентов с ПНГ.

ABP959 (Amgen) – моноклональное антитело, блокирующее C5-компонент комплемента, которое было разработано и исследуется как биоаналог оригинального препарата экулизумаб. Рандомизированное исследование I фазы было проведено в Австралии для сравнительного анализа фармакокинетики и фармакодинамики с оригинальным препаратом (результаты не опубликованы). В настоящее время проводится исследование III фазы данной молекулы в Европе (EudraCT Number 2017-001418-27) для подтверждения аналогичности по эффективности и безопасности оригинальному препарату [40].

RA101495 (Rapharma) является ведущим соединением нового класса малых синтетических макроциклических пептидов, разработанных для ингибирования C5-компонента комплемента [41]. Доклинические данные продемонстрировали эффективность данной молекулы в предотвращении гемолиза ПНГ *in vitro* [42]. RA101495 продемонстрировал безопасность и хорошую переносимость здоровыми добровольцами после однократного подкожного введения [4]. Многократные ежедневные подкожные введения подтвердили безопасность препарата и приводили к полному (> 95%) и устойчивому ингибированию терминального пути комплемента [43].

В то же время были разработаны дополнительные макроциклические пептиды против C5-компонента с высокой пероральной биодоступностью [44]. С учетом результатов доклинических данных предполагается, что уровни воздействия, необходимые для терапевтической эффективности у людей, могут быть достигнуты [45].

Coversin (Akari) является другим рекомбинантным экспрессируемым ингибитором C5-компо-

нента комплемента. Молекула данного соединения с молекулярной массой 16 кДа была получена из слюны клеща *Ornithodoros moubata*. Механизм действия заключается в связывании C5-компонента, тем самым предотвращая его расщепление всеми C5-конвертазами [46]. Его потенциальная эффективность в отношении ПНГ подтверждается результатами исследований *in vitro*, демонстрирующими возможность коверсином предотвращать лизис эритроцитов ПНГ даже в образцах у пациентов с полиморфизмом R885H [47]. Коверсин показал отличную биодоступность и безопасность после подкожного введения. Первое исследование (NCT02591862) было успешно проведено у пациентов с ПНГ, резистентных к экулизумабу из-за полиморфизма C5 [48]. Затем было проведено открытое исследование фазы II у наивных пациентов с ПНГ, в котором определяли дозу коверсина, назначаемого подкожно в целях адекватного контроля гемолиза [49]. Протокол включал начальный режим нагрузки (разовая нагрузочная доза 60 мг, далее 1–3 дозы по 30 мг каждые 12 ч) с последующим назначением дважды в день 15 или 22,5 мг; далее с 29-го дня пациенты переходили на ежедневную инъекцию в дозе 30 или 45 мг [50]. Из 8 пациентов 1 был исключен из исследования из-за сопутствующей патологии, не связанной с данным препаратом, остальные продолжили лечение в рамках дополнительного исследования [38], 6 пациентов в настоящее время получают суточную дозу 45 мг и 1 пациент – 30 мг [50]. Все пациенты самостоятельно вводят препарат без необходимости госпитализации.

ALN-CC5 (Alnylam) – в дополнение к моноклональному антителу и небольшим пептидным молекулам была разработана другая стратегия ингибирования C5, направленная на вмешательство в выработку эндогенного C5-компонента посредством интерференции РНК. Первым в своем классе средством для этой стратегии является ALN-CC5 – si-РНК-дуплекс, специфичный для C5, который продемонстрировал высокую эффективность в подавлении выработки C5 в печени животных [51]. Клиническая программа ALN-CC5 началась с фазы I/II исследования (NCT02352493), включающей как здоровых добровольцев, так и не леченных пациентов с ПНГ [28]. Было обнаружено, что у 32 включенных в исследование здоровых субъектов ALN-CC5 является безопасным и высокоэффективным, что приводит к снижению уровня C5 в плазме > 99% [52]; это было связано с глубоким ингибированием (> 95%) сывороточной активности комплемента. В том же исследовании 6 пациентов с ПНГ получали лечение ALN-CC5 в еженедельной дозе 200 или 400 мг [28, 53]. Среди этих пациентов 3 были наивными и, следовательно, проходили лечение в виде монотерапии, тогда как

3 получали ALN-CC5 в качестве дополнительного лечения с экулизумабом [53]. Исследуемый препарат показал свою безопасность, так как ни одно нежелательное явление не требовало прекращения терапии; результаты были различными в 2 группах пациентов независимо от того, что у всех больных продукция C5 была ингибирована > 98%. Все вместе эти данные демонстрируют, что монотерапия ALN-CC5 может приводить к субоптимальному контролю внутрисосудистого гемолиза при ПНГ, с другой стороны, после применения в комбинации с экулизумабом ALN-CC5 обеспечивает более эффективное ингибирование C5, чего до сих пор не наблюдалось при применении моноклональных антител, направленных на ингибирование C5-компонента комплемента. Однако данные о длительном ингибировании C5 на основе интерференции РНК, так же как и в отношении эффективности повторного лечения, отсутствуют. Клиническое исследование комбинированного лечения экулизумабом и молекулой ALN-CC5 в настоящее время продолжается у пациентов с плохим ответом на терапию экулизумабом в целях улучшения их клинического ответа [54].

Ингибиторы проксимальной части комплемента

Необходимо отметить, что ингибиторы проксимального комплемента не изучены так же глубоко, как терапевтические соединения, направленные на анти-C5. Нужно учитывать данные, что C3-опосредованный внесосудистый гемолиз может ограничивать терапевтический эффект при лечении экулизумабом [55, 56]. Рядом авторов была выдвинута гипотеза о том, что блокада проксимальной части каскада комплемента выше от C5-компонента представляет собой многообещающую стратегию для терапии C3-опосредованного внесосудистого гемолиза, возникающего при ПНГ во время лечения экулизумабом. Действительно, понимание системы комплемента представляет несколько альтернативных целей в каскаде комплемента [57, 58]. В настоящее время область проксимальных ингибиторов комплемента включает ингибиторы C3-компонента (аналоги компстатина AMY-101 и APL-2) и селективные ингибиторы альтернативного пути, нацеленные либо на фактор комплемента D, либо на фактор комплемента В.

AMY-101 (Amyndas) является аналогом компстатина, который был открыт в 1990-е годы профессором Дж. Ламбрисом [59]. Компстатин связывается с наивным C3-компонентом системы комплемента человека и приматов и с его активным фрагментом C3b, предотвращая конвертазную активность связанного с компстатином C3bBb и расщепление связанного с компстатином C3 в C3b посредством предварительно образованных конвертаций C3 [59]. Компстатин и его аналоги являются ингибиторами C3,

которые полностью отключают активацию каскада комплемента по всем активирующим путям, включая петлю амплификации [60]. Согласно опубликованной информации, AMY-101 безопасен, хорошо переносится и демонстрирует профиль фармакокинетики и фармакодинамики, который может поддерживать терапевтическую схему эффективного ингибирования C3-компонента комплемента посредством подкожного введения каждые 48 ч [61]. Имеются данные исследования фазы II, в котором изучалась эффективность применения AMY-101 в качестве монотерапии как у наивных пациентов, так и у больных, получавших ранее лечение экулизумабом с плохим ответом на терапию [62].

APL-2 (Apellis) является еще одним аналогом компстатина, который модифицирован посредством пегилирования в целях увеличения его периода полувыведения *in vivo* [63]. В 2 двойных слепых плацебо-контролируемых исследованиях I фазы были изучены безопасность, переносимость, фармакокинетика и фармакодинамика по эскалации дозирования APL-2 у здоровых добровольцев [65]. В общей сложности 24 добровольца получали однократные дозы в диапазоне от 45 до 1440 мг подкожно и 16 человек – множественные подкожные инъекции в диапазоне от 30 до 270 мг. О серьезных побочных эффектах, а также о событиях, приводящих к прекращению приема лекарственного препарата, не сообщалось. В рамках этого исследования было назначено более 5000 подкожных инъекций APL-2 (270 мг или выше) для системного лечения более 700 пациентов с ПНГ. Препарат показал свою безопасность даже при высоком риске инфекционных осложнений на фоне проводимой вакцинации и антибиотикопрофилактики. Основываясь на этих данных, компания Апеллис начала большое исследование III фазы на пациентах с ПНГ с субоптимальным гематологическим ответом на экулизумаб (гемоглобин < 105 г/л). В данном исследовании после короткого периода сопутствующего лечения пациенты будут рандомизированы для продолжения монотерапии экулизумабом или APL-2 [65].

ACH-4471 (Achillion) представляет собой пероральный ингибитор фактора D, который продемонстрировал ингибирующую антигемолитическую активность при ПНГ *in vitro* [66]. Он был выбран среди большинства молекул-кандидатов за лучшие показатели фармакокинетики [67]. В клиническом исследовании II фазы по оценке эффективности, безопасности и фармакокинетики ACH-4471 у ранее не леченных пациентов с ПНГ (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03053102) препарат использовался в виде монотерапии. Первичной конечной точкой исследования было изменение уровня ЛДГ, тогда как концентрация гемоглобина и биомаркеров системы

комплемента были включены в качестве вторичных конечных точек [68]. Параллельно было начато второе исследование у пациентов с ПНГ с плохим ответом на терапию экулизумабом, определяемое потребностью в гемотрансфузиях (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03472885). В данном исследовании АСН-4471 назначался в качестве дополнительной терапии к экулизумабу в 3 разных дозах (100, 150 или 200 мг) трижды в день [69]. В соответствии с фактическими причинами, которые привели к клинической разработке ингибиторов проксимального комплемента при ПНГ, основной конечной точкой этого исследования является изменение уровня гемоглобина [70].

LNP023 (Novartis) относится к малым молекулам химического происхождения, основным механизмом действия которого является ингибирование фактора В системы комплемента. Подобно молекулам против фактора D [70], LNP023 предотвращает гемолиз и C3-опсонизацию ПНГ эритроцитов *in vitro* [71]. В настоящее время проводится клиническое исследование II фазы LNP023 в качестве дополнительной терапии у пациентов с плохим ответом на экулизумаб, проявляющимся повышением ЛДГ > 1,5 раза выше верхней границы нормы [72]. Данное исследование (Eudra CT Number 2017-000888-33) направлено на изучение безопасности, фармакокинетики, фармакодинамики и эффективности LNP023, назначаемого в фиксированной дозе перорально в дозе 200 мг 2 раза

в день. В исследование были включены 15 пациентов с ПНГ. Результаты исследования пока не опубликованы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Следует отметить, что область изучения патологии системы комплемента достаточно обширна, точки приложения новых молекул различны и еще не до конца изучены. В настоящее время расширяется клиническое применение биоаналоговых препаратов, подтвердивших в ходе клинических исследований аналогичные оригинальному препарату эффективность и безопасность. Очевидно, что научные и клинические исследования будут продолжаться и уже в ближайшие годы могут быть получены новые данные о механизме патологических изменений системы комплемента, а также разработаны препараты с высокой степенью эффективности и безопасности, повышающие качество жизни пациентов с ПНГ.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Кудлай Д.А. является сотрудником АО «ГЕНЕРИУМ». Остальные авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Kudlay D.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1878-4467>

Bakirov B.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3297-1608>

Pavlov V.N. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2125-4897>

Литература

- Кулагин А.Д., Лисуков И.А., Птушкин В.В., Шилова Е.Р., Цветаева Н.В., Михайлова Е.А. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению пароксизмальной ночной гемоглобинурии. Клиническая фармакология и терапия 2015; 24 (1): 18–26.
- Brodsky R.A. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood 2014; 124 (18): 2804–11. DOI: 10.1182/blood-2014-02-522128
- Hill A., DeZern A.E., Kinoshita T., Brodsky R.A. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Nat Rev Dis Primers 2017; 18 (3): 17028. DOI: 10.1038/nrdp.2017.28
- Socie G., Schrezenmeier H., Muus P., Lisukov I., Roth A., Kulasekararaj A., et al. Changing prognosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria disease subcategories: an analysis of the International PNH Registry. Intern Med J 2016; 46 (9): 1044–53. DOI: 10.1111/imj.13160
- Johnson R., Hillmen P. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: Nature's gene therapy? J Clin Pathol: Mol Pathol 2002; 55 (3): 145–52. DOI: 10.1136/mp.55.3.145
- Kinoshita T. Congenital defects in the expression of the glycosylphosphatidylinositol-anchored complement regulatory proteins CD59 and decay-accelerating factor. Semin. Hematol. 2018; 55 (3): 136–40. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2018.04.004
- Parker C., Omine M., Richards S., Nishimura J.-I., Bessler M., Ware R., et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood 2005; 106 (12): 3699–709. DOI: 10.1182/blood-2005-04-1717
- Parker C.J. Update on the Diagnosis and Management of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2016; 2016 (1): 208–16. DOI: 10.1182/asheducation-2016.1.208
- Hillmen P., Lewis S.M., Bessler M., Luzzatto L., Dacie J.V. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. N Engl J Med 1995; 333 (19): 1253–8. DOI: 10.1056/NEJM199511093331904
- Hill A., Kelly R.J., Hillmen P. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood 2013; 121 (25): 4985–96; quiz 5105. DOI: 10.1182/blood-2012-09-311381
- Weitz I.C. Thrombosis in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Semin Thromb Hemost 2011; 37 (3): 315–21. DOI: 10.1055/s-0031-1273095
- Hillmen P., Muus P., Duhrsen U., Ristano A.M., Schubert J., Luzzatto L., et al. Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood 2007; 110 (12): 4123–8. DOI: 10.1182/blood-2007-06-095646
- Moyo V.M., Mukhina G.L., Garrett E.S., Brodsky R.A. Natural history of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria using modern diagnostic assays. Br J Haematol 2004; 126 (1): 133–8. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.04992.x
- Hill A., Rother R.P., Wang X., Morris S.M. Jr, Quinn-Senger K., Kelly R., et al. Effect of eculizumab on haemolysis-associated nitric oxide depletion, dyspnoea, and measures of pulmonary hypertension in patients with paroxysmal nocturnal

- haemoglobinuria. *Br J Haematol* 2010; 149 (3): 414–25. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2010.08096.x
15. Hillmen P., Elebute M., Kelly R., Urbano-Ispizua A., Hill A., Rother R.P., et al. Long-term effect of the complement inhibitor eculizumab on kidney function in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Hematol* 2010; 85 (8): 553–9. DOI: 10.1002/ajh.21757
 16. Sakurai M., Jang J.H., Chou W.-C., Kim J.S., Wilson A., Nishimura J.-I., et al. Comparative study on baseline clinical characteristics of Asian versus non-Asian patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria / *International Journal of Hematology* October 2019; 110 (4): 411–8. DOI: 10.1007/s12185-019-02699-7
 17. Кулагин А.Д. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия: современные представления о редком заболевании. *Клиническая онкогематология* 2019; 12 (1): 4–20.
 18. Brodsky R.A., Young N.S., Antonioli E., Risitano A.M., Schrezenmeier H., Schubert J., et al. Multicenter phase 3 study of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2008; 111 (4): 1840–7. DOI: 10.1182/blood-2007-06-094136
 19. European Medicines Agency (EMA). Soliris: EPAR – Product Information. Summary of product characteristics. London: EMA; 2020. Available at: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/soliris#product-information-section>
 20. Эмирова Х.М., Орлова О.М., Музуров А.Л., Генералова Г.А., Панкратенко Т.Е., Абасеева Т.Ю. и др. Опыт применения Элизарии® при атипичном гемолитико-уремическом синдроме. *Педиатрия* 2019; 98 (5): 225–9.
 21. Lavrishcheva I.V., Jakovenko A.A., Kudlay D.A. A case report of atypical hemolytic-uremic syndrome treatment with the first Russian eculizumab in adult patient. *Urology & Nephrology Open Access Journal* 2020; 8 (2): 37–40.
 22. Kulagin A., Ptushkin V., Lukina E., Garchenko E., Markova O., Zuev E., Kudlay D. Phase III clinical trial of Elizaria® and Soliris® in adult patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: results of comparative analysis of efficacy, safety, and pharmacological data. *Blood* 2019; 134 (Suppl 1): 3748. DOI: 10.1182/blood-2019-125693
 23. Птушкин В.В., Кулагин А.Д., Лукина Е.А., Давыдкин И.Л., Константинова Т.С., Шамрай В.С. и др. Результаты открытого многоцентрового клинического исследования Ib фазы по оценке безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики первого биоаналога экулизумаба у нелеченых пациентов с пароксизмальной ночной гемоглобинурией в фазе индукции терапии. *Терапевтический архив* 2020; 92 (7): 77–84. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000818.
 24. Иванов Р., Секарёва Г., Кравцова О., Кудлай Д., Лукьянов С., Тихонова И. и др. Правила проведения исследований биоаналоговых лекарственных средств (биоаналогов). *Фармакокинетика и фармакодинамика* 2014; 1: 21–36.
 25. Risitano A., Marotta S. Toward complement inhibition 2.0: Next generation anticomplement agents for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Hematol* 2018; 93 (4): 564–77. DOI: 10.1002/ajh.25016
 26. Mastellos D., Ricklin D., Lambris J. Clinical promise of next-generation complement therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 2019; 18 (9): 707–29. DOI: 10.1038/s41573-019-0031-6
 27. Sheridan D., Yu Z.X., Zhang Y., Patel R., Sun F., Lasaro M.A., et al. Design and pre-clinical characterization of ALXN1210: a novel anti-C5 antibody with extended duration of action. *PLoS ONE* 2018; 13: e0195909. DOI: 10.1371/journal.pone.0195909
 28. A Phase 1/2 Study of an Investigational Drug, ALN-CC5, in Healthy Adult Volunteers and Patients With PNH. *ClinicalTrials.gov*. A service of the U.S. National Institutes of Health. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02352493>
 29. Kulasekararaj A.G., Hill A., Rottinghaus S.T., Langemeijer S., Wells R., Gonzalez-Fernandez F.A., et al. Ravulizumab (ALXN1210) vs eculizumab in C5-inhibitor-experienced adult patients with PNH: the 302 study. *Blood* 2019; 133 (6): 540–9. DOI: 10.1182/blood-2018-09-876805
 30. Kulasekararaj A., Hill A.J., Langemeijer S., Wells R.A., González-Fernández F., Gayà A., et al. One-Year Efficacy and Safety from a Phase 3 Trial of Ravulizumab in Adult Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Receiving Prior Eculizumab Treatment. *Blood* 2019; 134 (Suppl 1): 2231.
 31. Fukuzawa T., Sampei Z., Haraya K., Ruike Y., Shida-Kawazoe M., Shimizu Y., et al. Long lasting neutralization of C5 by SKY59, a novel recycling antibody, is a potential therapy for complement-mediated diseases. *Sci Rep* 2017; 7: 1080. DOI: 10.1038/s41598-017-01087-7
 32. Sampei Z., Haraya K., Tachibana T., Fukuzawa T., Shida-Kawazoe M., Gan S.W., et al. Antibody engineering to generate SKY59, a long-acting anti-C5 recycling antibody. *PLoS ONE* 2018; 13: e0209509. DOI: 10.1371/journal.pone.0209509
 33. Roth A., Egyed M., Ichikawa S., Kim J.S., Nagy Z., Weisinger J.G., et al. The SMART Anti-hC5 antibody (SKY59/RO7112689) shows good safety and efficacy in patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH) *Blood* 2018; 132: 535. DOI: 10.1182/blood-2018-99-113274
 34. Peffault de Latour R., Schrezenmeier H., Bacigalupo A., Blaise D., de Souza C.A., Vigouroux S., et al. Allogeneic stem cell transplantation in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica* 2012; 97:1666–73. DOI: 10.3324/haematol.2012.062828
 35. Sostelly A., Soubret A., Bucher C., Bua-tois S., Charoin J.-E., Jordan G., et al. Characterizing C5 Inhibition with the SMART-Ig Anti-hC5 Antibody Crovalimab in PNH Patients Using Free Available Paratopes. *Blood* 2019; 134 (Suppl 1): 1227. DOI: 10.1182/blood-2019-126911
 36. Röth A., Nishimura J.-I., Nagy Z., Gaál-Weisinger J., Panse J., Yoon S.-S., et al. The complement C5 inhibitor crovalimab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2020; 135 (12): 912–20. DOI: 10.1182/blood.2019003399
 37. Proof of Concept Study to Assess the Efficacy, Safety and Pharmacokinetics of LFG316 in Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *ClinicalTrials.gov*. A service of the U.S. National Institutes of Health. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02534909>
 38. Nishimura J., Yamamoto M., Hayashi S., Ohyashiki K., Ando K., Brodsky A.L., et al. Genetic variants in C5 and poor response to eculizumab. *N Engl J Med* 2014; 370 (7): 632–9. DOI: 10.1056/NEJMoa1311084
 39. Weyne J., Ni Y., DelGizzi R., Godin S., Morton L., Prasad S., et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled phase 1 study of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of REGN3918, a human antibody against complement factor C5, in healthy volunteers. *Blood* 2018; 132: 1039. DOI: 10.1182/blood-2018-99-112262
 40. A Randomized, Double-Blind, Active-Controlled Phase 3 Study Evaluating the Efficacy and Safety Of Abp 959 Compared With Eculizumab in Adult Subjects With Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH). *EU Clinical Trials Register*. Available at: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctrsearch/search?query=2017--001418-27>
 41. Josephson K., Ricardo A., Szostak J.W. mRNA display: from basic principles to macrocycle drug discovery. *Drug Discov Today* 2014; 19: 388–99. DOI: 10.1016/j.drudis.2013.10.011
 42. Ricardo A., Arata M., DeMarco S., Dhamnaskar K., Hammer R., Fridkis-Hareli M., et al. Preclinical evaluation of RA101495, a potent cyclic peptide inhibitor of C5 for the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2015; 126: 939.

43. Phase 2 Safety and Efficacy Study of Zilucoplan (RA101495) to Treat PNH Patients ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT03078582?term=RA101495&draw=2&rank=3>
44. Ricardo A., Hoarty M.D., Blain J.C., DeMarco S.J., Galullo V., Hale M.R., et al. Discovery of orally bioavailable small molecules for inhibition of complement C5. *Haematologica* 2017; 102: 189.
45. Ricardo A., Hale M., Zhong M., Reves J., Savegh C., Sherry K., et al. Characterization of orally bioavailable small molecule inhibitors of complement C5. *HemaSphere* 2018; 2: 730.
46. Nunn M.A., Sharma A., Paesen G.C., Adamson S., Lissina O., Willis A.C., et al. Complement inhibitor of C5 activation from the soft tick *Ornithodoros moubata*. *J Immunol* 2005; 174: 2084–91. DOI: 10.4049/jimmunol.174.4.2084
47. Weston-Davies W.H., Nunn M.A., Pinto F.O., Mackie I.J., Richards S.J., Machin S.J., et al. Clinical and immunological characterisation of coversin, a novel small protein inhibitor of complement C5 with potential as a therapeutic agent in PNH and other complement mediated disorders. *Blood* 2014; 124: 4280.
48. Coversin in Paroxysmal Nocturnal Haemoglobinuria (PNH) in Patients with resistance to eculizumab due to complement C5 polymorphisms. ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02591862>
49. COBALT: Coversin Global Study: An Open-Label, Safety and Efficacy Trial in PNH Patients. EU Clinical Trials Register. Available at: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=2016--002067-33>
50. Hill A., Windyga J., Robak T., Hellman A., Kulasekararaj A., Weston-Davies W., et al. Results of COBALT, a phase II clinical trial of coversin in PNH. *HemaSphere* 2018; 2: 109.
51. Borodovsky A., Yucius K., Sprague A., Butler J., Fishman S., Nguyen T., et al. Development Of RNAi therapeutics targeting the complement pathway. *Blood* 2013; 122: 2471.
52. Hill A., Taubel J., Bush J., Borodovsky A., Kawahata N., Mclean H., et al. A subcutaneously administered investigational RNAi therapeutic (ALN-CC5) targeting complement C5 for treatment of PNH and complement-mediated diseases: interim phase 1 study results. *Blood* 2015; 126: 2413.
53. Hill A., Valls A.G., Griffin M., Munir T., Borodovsky A., Kawahata N., et al. A subcutaneously administered investigational RNAi therapeutic (ALN-CC5) targeting complement C5 for treatment of PNH and complement-mediated diseases: preliminary phase 1/2 study results in patients with PNH. *Blood* 2016; 128: 3891.
54. A Phase 2, Open-label, Single Dose, Study of Subcutaneously Administered ALN-CC5 in Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria who are Inadequate Responders to Eculizumab. EU Clinical Trials Register. Available online at: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=2016--002943-40>
55. Risitano A.M., Notaro R., Marando L., Serio B., Ranaldi D., Seneca E., et al. Complement fraction 3 binding on erythrocytes as additional mechanism of disease in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients treated by eculizumab. *Blood* 2009; 113: 4094–100. DOI: 10.1182/blood-2008-11-189944
56. Hill A., Rother R.P., Arnold L., Kelly R., Cullen M.J., Richards S.J., et al. Eculizumab prevents intravascular hemolysis in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and unmasks low-level extravascular hemolysis occurring through C3 opsonization. *Haematologica* 2010; 95: 567–73. DOI: 10.3324/haematol.2009.007229
57. Holers V.M. The complement system as a therapeutic target in autoimmunity. *Clin Immunol* 2003; 107: 140–51. DOI: 10.1016/S1521-6616(03)00034-2
58. Morgan B.P., Harris C.L. Complement, a target for therapy in inflammatory and degenerative diseases. *Nature reviews. Drug Discov* 2015; 14: 857–77. DOI: 10.1038/nrd4657
59. Sahu A., Kay B.K., Lambris J.D. Inhibition of human complement by a C3-binding peptide isolated from a phage-displayed random peptide library. *J Immunol* 1996; 157 (2): 884–91.
60. Ricklin D., Lambris J.D. Compstatin: a complement inhibitor on its way to clinical application. *Adv Exp Med Biol* 2008; 632: 273–92. DOI: 10.1007/978-0-387-78952-1_20
61. Amyndas Pharmaceuticals press release about positive preliminary results from a Phase 1 clinical trial of its C3-targeted complement inhibitor, AMY-101, 2017. Available at: <https://www.amyndas.com/amyndas-pharmaceuticals-announces-positive-results-from-a-phase-i-trial-of-its-new-complement-c3-inhibitor-amy-101/>
62. Lambris J., Reis E., Berger N., Lang M.H., Nilsson B., Smith R., et al. An update on the clinical development of compstatin (AMY-101). In: 11th International Conference on Complement Therapeutics. Chania 2018: 142.
63. Qu H., Ricklin D., Bai H., Chen H., Reis E.S., Maciejewski M., et al. New analogs of the clinical complement inhibitor compstatin with subnanomolar affinity and enhanced pharmacokinetic properties. *Immunobiology* 2013; 218: 496–505. DOI: 10.1016/j.imbio.2012.06.003
64. Grossi F.V., Bedwell P., Deschatelets P., Edis L., Francois C.G., Johnson P.J., et al. APL-2, a complement C3 inhibitor for the potential treatment of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH): Phase I data from two completed studies in healthy volunteers. *Blood* 2016; 128: 1251.
65. A Phase III, Randomized, Multi-Center, Open-Label, Active-Comparator Controlled Study to Evaluate the Efficacy and Safety of APL-2 in Patients With Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH). ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03500549>
66. Morgan B.P., Thanassi J., Podos S., Phadke A., Gadachanda V., Pais G., et al. Novel small-molecule inhibitors targeting complement factor D for therapy of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2014; 124: 4817.
67. Wiles J., Podos S., Thanassi J., Phadke A., Gadachanda V., Pais G., et al. Preclinical evaluation of orally bioavailable small-molecule inhibitors of complement factor D as a potential treatment for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2014; 124: 4819.
68. A Treatment Study of ACH-0144471 in Patients With Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH). ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03053102>
69. A Treatment Study of ACH-0144471 in Patients With Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH) With Inadequate Response to Eculizumab. ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03472885>
70. Maibaum J., Liao S.M., Vulpetti A., Ostermann N., Randl S., Rudisier S., et al. Small-molecule factor D inhibitors targeting the alternative complement pathway. *Nat Chem Biol* 2016; 12: 1105–10. DOI: 10.1038/nchembio.2208
71. Schubart A., Maibaum J., Anderson K., Sellner H., MacSweeney A., Littlewood-Evans A., et al. Small-molecule factor B inhibitors for oral treatment of alternative pathway driven diseases. In: 9th International Conference on Complement Therapeutics. Rhodes; 2016.
72. Study of Safety, Efficacy, Tolerability, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of LNP023 in Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH). ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03439839>

GD2-направленная иммунотерапия нейробластомы группы высокого риска с использованием химерных антител ch14.18

Т.В. Шаманская, Н.А. Андреева, Д.Т. Уталиева, Д.Ю. Качанов

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 24.08.2020
Принята к печати 04.09.2020

Контактная информация:

Качанов Денис Юрьевич, д-р мед. наук, заведующий отделением клинической онкологии, заместитель директора Института онкологии, радиологии и ядерной медицины ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: Denis.Kachanov@fccho-moscow.ru

Нейробластома является наиболее частой экстракраниальной солидной опухолью у детей от 0 до 14 лет. Современные риск-адаптированные программы лечения основаны на выделении 3 групп риска. В группу высокого риска стратифицируются 40–50% пациентов. Прогноз у пациентов группы высокого риска остается неблагоприятным (вероятность долгосрочной выживаемости менее 50%), несмотря на применение агрессивной мультимодальной терапии, включающей высокодозную химиотерапию и аутологичную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток. В большинстве случаев опухолевые клетки при нейробластоме экспрессируют дисialogанглиозид GD2, рассматривающийся как возможная мишень для проведения иммунотерапии. На протяжении последних 30 лет были разработаны и внедрены в клиническую практику GD2-направленные химерные моноклональные антитела ch14.18. Целым рядом клинических исследований было показано улучшение прогноза у пациентов с нейробластомой группы высокого риска при использовании моноклональных антител ch14.18, в первую очередь за счет эрадикации минимальной остаточной популяции опухолевых клеток, резистентных к стандартной химиотерапии. Настоящий обзор литературы обобщает международный опыт применения моноклональных антител ch14.18 от ранних фаз клинических исследований до крупных рандомизированных исследований, позволивших рассматривать иммунотерапию как важный компонент мультимодальной терапии нейробластомы группы высокого риска. Рассмотрены перспективы применения и место иммунотерапии в первой линии терапии у пациентов с нейробластомой группы высокого риска и у больных с рецидивами заболевания.

Ключевые слова: дети, нейробластома, GD2, иммунотерапия, моноклональные антитела

Шаманская Т.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 173–188. DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-173-188

Anti-GD2 immunotherapy with the chimeric antibody ch14.18 for high-risk neuroblastoma

T.V. Shamanskaya, N.A. Andreeva, D.T. Utalieva, D.Yu. Kachanov

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 24.08.2020
Accepted 04.09.2020

Correspondence:

Denis Yu. Kachanov, Dr. med. sci., Head of the Department of Clinical Oncology, Deputy Director of the Institute of Oncology, Radiology and Nuclear Medicine, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 117997, Russia, Moscow, Samory Mashela st., 1
E-mail: Denis.Kachanov@fccho-moscow.ru

Neuroblastoma is the most common extracranial solid tumor in children 0–14 years old. Current risk-adapted treatment programs are based on stratification of patient into three risk groups. 40–50% of patients are stratified into the high-risk group. The prognosis in high-risk patients remains poor (the probability of long-term survival is less than 50%), despite the use of aggressive multimodal therapy, including high-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation. In most cases tumor cells in neuroblastoma express disialoganglioside GD2, which is a possible target for immunotherapy. Over the past 30 years, GD2-directed chimeric monoclonal antibodies ch14.18 have been introduced into clinical practice. A number of clinical studies have shown an improvement in the prognosis in patients with high-risk neuroblastoma, when using monoclonal antibodies ch14.18, primarily due to the eradication of the minimal residual population of tumor cells resistant to standard chemotherapy. This literature review summarizes the international experience in the use of monoclonal antibodies ch14.18 from early phases of clinical trials to large randomized trials, which allowed immunotherapy to be considered as an important component of multimodal therapy for high-risk neuroblastoma. Future prospects for the use and place of immunotherapy in first-line therapy of high-risk neuroblastoma and in relapsed setting are considered.

Key words: children, neuroblastoma, GD2, immunotherapy, monoclonal antibodies

Shamanskaya T.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 173–188. DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-173-188

Нейробластома (НБ) является наиболее частой экстракраниальной солидной опухолью у детей от 0 до 14 лет, на долю которой прихо-

дится 5,8–7% всех случаев заболевания злокачественными новообразованиями [1, 2]. Современные риск-адаптированные программы лечения основаны

на выделении 3 групп риска [3, 4]. В группу высокого риска стратифицируются 40–50% пациентов. Прогноз у пациентов группы высокого риска остается неблагоприятным, несмотря на применение агрессивной мультимодальной терапии, включающей интенсивную индукционную полихимиотерапию (ПХТ), хирургическое лечение, различные виды лучевой терапии, высокодозную терапию с последующей аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) и дифференцировочную терапию 13-цис-Ретиноевой кислотой. Вероятность длительной бессобытийной выживаемости (БСВ) не превышает 32–42% [5–7].

Показано, что помимо первично-резистентного течения заболевания, большинство неудач лечения обусловлено развитием рецидивов или прогрессирования заболевания, несмотря на хороший ответ на терапию первой линии. При этом в большинстве случаев рецидивы носят метастатический или комбинированный характер, что указывает на необходимость оптимизации терапии, направленной на контроль за отдаленными метастазами [8, 9].

Эрадикация минимальной остаточной болезни у пациентов с НБ группы высокого риска представляется чрезвычайно важным компонентом мультимодальной терапии. Подходы, основанные на иммунотерапии как методе элиминации остаточного пула клеток, резистентных к стандартной и высокодозной химиотерапии, являются очень перспективными [10]. Следует отметить, что активная иммунотерапия, основанная на индукции эффекторных клеток, обладающих иммунологической памятью, малоэффективна у пациентов, подвергающихся интенсивной ПХТ [11]. Напротив, пассивная иммунотерапия на основе моноклональных антител к опухоль-специфическим антигенам клеток НБ рассматривается как более эффективная стратегия у пациентов с индуцированной ПХТ иммуносупрессией [12]. Одним из наиболее изученных антигенов при НБ является дисialogанглиозид GD2.

Ганглиозиды являются классом сложных гликолипидов, относящихся к семейству гликофинголипидов, расположенных на внешней поверхности клеточной мембраны эукариот [12, 13]. Одним из наиболее изученных ганглиозидов является дисialogанглиозид GD2, универсально экспрессирующийся на поверхности клеток НБ. Исследования, проведенные в антенатальном периоде, показывают, что экспрессия GD2 выявляется на эмбриональных нейрональных стволовых клетках [14]. В постнатальном периоде GD2 экспрессируется на ограниченном числе клеток и тканей, включая нейроны периферической нервной системы, клетки центральной нервной системы (ЦНС), в частности мозжечка, меланоциты кожи и мезенхимальные стро-

мальные клетки костного мозга [12, 13, 15]. Функция ганглиозидов включает участие в клеточном взаимодействии, адгезии, пролиферации и дифференцировке [13]. Показано, что ганглиозид GD2 может оказывать иммуносупрессивное воздействие на эффекторные клетки, в частности влияя на количество и функцию опухоль-инфильтрирующих миелоидных супрессорных клеток [16]. Биосинтез GD2 происходит из ганглиозидов-предшественников, таких как GD3/GM3, под воздействием GD2-синтазы [12]. Дисialogанглиозид GD2 рассматривается как элемент иммунологической идентичности клеток млекопитающих и не является иммуногенным [12].

Ганглиозид GD2 экспрессируется на целом ряде злокачественных новообразований помимо НБ, при этом данный список постепенно дополняется новыми нозологическими формами [17]. К опухолям, экспрессирующим GD2, относят меланому, саркому Юинга, остеосаркому, рабдомиосаркому, десмопластическую мелкокруглоклеточную опухоль, ретинобластому [12, 13].

Ранние исследования, направленные на оценку экспрессии GD2 на клетках НБ, указывают на универсальную экспрессию независимо от стадии, включая пациентов с 4S стадией заболевания [18]. Так, Z.Wu и соавт. выявили экспрессию GD2 на всех 36 образцах ткани первичной НБ, при этом GD2 составлял значительный удельный вес от общего количества ганглиозидов (4–38%). Напротив, анализ 6 образцов первичных и вторичных (после терапии по поводу НБ) ганглионейробластом и ганглионевром выявил значительно меньшие или неопределяемые уровни GD2 (< 0,5–1,5%) [18]. Показано, что экспрессия GD2 ограничивается нейробластами, составляя 5–10 млн молекул на клетку, и не выявляется на шванновских клетках [12, 13].

Дисialogанглиозид GD2 может выявляться в циркулирующей крови, при этом концентрации ганглиозидов коррелируют со стадией опухолевого процесса [19]. Кроме того, несмотря на доказанный феномен «смывания» GD2 с поверхности опухолевых клеток, его концентрации не рассматриваются как значимые для блокирования противоопухолевых эффектов анти-GD2-моноклональных антител [12]. Анализ экспрессии GD2 у пациентов с рецидивами НБ, в том числе получавших в первой линии терапии анти-GD2-моноклональные антитела, продемонстрировал наличие GD2 на большинстве образцов ткани опухоли и костного мозга (61/62; 98%) [20]. Полученные данные указывают на возможность повторного применения анти-GD2-моноклональных антител у пациентов с рецидивами заболевания.

Все вышеперечисленное позволило программе по приоритизации опухоль-ассоциированных антигенов Национального института рака США ранжиро-

вать GD2 на 12-е место в числе наиболее значимых антигенов [21].

Активные исследования GD2-направленной пассивной иммунотерапии с использованием GD2-специфических моноклональных антител были начаты несколькими исследовательскими группами в середине 80-х годов XX века [22]. При этом были разработаны как мышинные анти-GD2-моноклональные антитела, в частности m3F8 и 14.G2a, так и химерные антитела мыши/человека, в частности ch14.18. Изучение клинической эффективности моноклональных антител m3F8 проводилось в Мемориальном госпитале Слоан-Кеттеринг (Memorial Sloan Kettering Cancer Center, Нью-Йорк, США) [23]. Результатом целого ряда исследований явилась демонстрация их высокой эффективности у пациентов с НБ группы высокого риска, а также разработка оригинальных подходов к лечению данной группы больных, основанных на активном применении m3F8 в случае достижения полного ответа при отказе от выполнения высокодозной химиотерапии и ауто-ТГСК [24].

Настоящая публикация посвящена обзору клинического применения химерных моноклональных антител ch14.18, эффективность которых была продемонстрирована в рамках крупных многоцентровых клинических исследований, включая рандомизированные [25–27].

Конструкция химерных антител ch14.18 была разработана группой под руководством S.D. Gillies в 1989 г. [28]. ch14.18 состоит из вариабельных регионов мышинных анти-GD2-моноклональных антител 14.18 и константных регионов человеческого иммуноглобулина G1. Доклинические исследования продемонстрировали противоопухолевую активность антител ch14.18 на клеточных линиях НБ, охарактеризовали основные механизмы цитотоксичности, что послужило основанием для клинических исследований [29].

Как уже отмечалось ранее, выраженная иммуносупрессия у пациентов, подвергающихся интенсивной ПХТ, с одной стороны, является препятствием для применения активной иммунотерапии, с другой – может способствовать эффективности пассивной иммунотерапии за счет снижения продукции человеческих антимышинных нейтрализующих антител [12]. Механизмы клеточной гибели при воздействии анти-GD2-моноклональных антител включают антитело-зависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность, комплемент-зависимую цитотоксичность и прямое цитотоксическое воздействие, запускающее механизмы апоптоза и некроза опухолевых клеток [30, 31]. Кроме того, дополнительным механизмом противоопухолевой активности анти-GD2-моноклональных антител может быть

участие в формировании антиидиотипической сети [32]. Антитело-зависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность реализуется преимущественно за счет клеток, несущих на своей поверхности Fc-рецептор, таких как натуральные киллеры (NK), гранулоциты и макрофаги, учитывая лишь транзиторное угнетение их функциональной активности на фоне проводимой ПХТ. Было показано, что использование цитокинов, таких как интерлейкин-2 (ИЛ-2) и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) могут усиливать антитело-зависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность, повышая активность NK-клеток и макрофагов/гранулоцитов соответственно [33, 34]. Полученные данные привели к активному назначению цитокинов параллельно с анти-GD2-моноклональными антителами для повышения их клинической эффективности.

Исследование I фазы, проведенное на группе из 9 пациентов с 4-й стадией НБ в Университете Тюбингена (Германия), позволило определить максимальную переносимую дозу антител ch14.18 (Maximum Tolerated Dose), равную 50 мг/м²/сут [35]. Препарат вводился 8-часовой инфузией в течение 5 последовательных дней. Основные побочные эффекты терапии включали боль, преимущественно в животе и суставах, которая требовала профилактического введения морфина. Болевые ощущения являлись следствием воздействия препарата на ганглиозид GD2, экспрессирующийся на периферических нервных волокнах. Болевой синдром являлся побочным эффектом, определяющим максимальную переносимую дозу препарата. Следует отметить, что выраженная боль купировалась после подбора дозы наркотического анальгетика и кратковременного прекращения инфузии ch14.18. Введение препарата возобновлялось после купирования болевых ощущений. Кроме того, побочные эффекты включали аллергические реакции в виде зуда, экзантемы и крапивницы. Интересным наблюдением явилась демонстрация противоопухолевой активности ch14.18, выражающаяся в достижении полного ответа у 2 пациентов и частичного ответа также у 2 больных (таблица) [35].

Второе исследование I фазы, проведенное в США А. Yu и соавт. [36], рекрутировало 10 пациентов с НБ и 1 больного с остеосаркомой. Препарат вводился в дозах, варьирующих от 10 до 200 мг/м² в течение 1 дня. Следует отметить, что максимальная переносимая доза не была достигнута, однако было показано, что болевой синдром наиболее контролировался при использовании антител ch14.18 в дозе 10–20 мг/м², введение препарата в дозе, превышающей 50 мг/м², часто требовало снижения скорости введения. Помимо описанных выше побочных

Таблица

Результаты исследований анти-GD2-моноклональных антител ch14.18

Table

The results of the studies on the anti-GD2-monoclonal antibody ch14.18

Автор, журнал, год Author, journal, year	Фаза исследования Phase of the study	Число пациентов Number of patients	Режим введения ch14.18 ch14.18 dosage and administration	Результаты/выводы Results/conclusions
Моноterapia Monotherapy				
R. Hangretinger, Eur J Cancer, 1995 [35]	I	9	30–40–50 мг/м ² /сут в течение 5 дней, внутривенно за 8 ч 30–40–50 mg/m ² /day for 5 days, i.v. over 8 h	Определена максимальная переносимая доза – 50 мг/м ² /сут. Дозолимитирующая токсичность – болевой синдром. Случаев выявления НАСА не отмечено. The maximum tolerated dose was established at 50 mg/m ² /day. The dose-limiting toxicity: pain. None of the patients developed HACA
A. Yu, JCO, 1998 [36]	I	10 – нейробластома, 1 – остеосаркома 10 – neuroblastoma, 1 – osteosarcoma	10–200 мг/м ² /сут в течение 1 дня 10–200 mg/m ² /day for 1 day	Максимальная переносимая доза не достигнута. Дозозависимый характер токсичности. Дозы, превышающие 50 мг/м ² /сут, требовали снижения скорости введения. Минимальные проявления токсичности при дозе 20 мг/м ² /сут. Частота выявления НАСА – 70% (7/10) The maximum tolerated dose was not reached. Dose-dependent toxicity. Doses over 50 mg/m ² /day required a decrease in the infusion rate. Minimal toxicity was registered at a dose of 20 mg/m ² /day. The HACA response was observed in 70% of cases (7/10)
T. Simon, BMC Cancer, 2011 [38]	II	334 Три группы: 166 – ch14.18, 99 – поддерживающая терапия, 69 – наблюдение 334 Three groups: 166 – ch14.18, 99 – maintenance therapy, 69 – observation	20 мг/м ² /сут в течение 5 дней, внутривенно за 8–12 ч, 6 циклов 20 mg/m ² /day for 5 days, i.v. over 8–12 h, 6 cycles	Девятилетняя ОВ: 46 ± 4% – для пациентов, получавших ch14.18; 34 ± 5% – для пациентов, получавших поддерживающую терапию (p = 0.026); 35 ± 6% – для пациентов под наблюдением (p = 0.019). Положительное влияние на БСВ и ОВ при иммунотерапии по сравнению с наблюдением при проведении мультивариантного анализа, отсутствие различий при сравнении с поддерживающей терапией. Иммунотерапия может профилировать поздние рецидивы заболевания The 9-year overall survival: 46 ± 4% in ch14.18 recipients; 34 ± 5% in patients receiving maintenance therapy (p = 0.026); 35 ± 6% in patients from the observation group (p = 0.019); A multivariate analysis showed better event-free and overall survival rates in patients receiving immunotherapy compared to the observation group, and did not demonstrate any difference between the ch14.18 recipients and patients undergoing maintenance therapy. Immunotherapy can prevent late relapses
R. Ladenstein, MAbs, 2013 [46]	I	16	10–20–30 мг/м ² /сут в течение 5 дней, внутривенно за 8 ч 10–20–30 mg/m ² /day for 5 days, i.v. over 8 h	Определен дозовый режим – 20 мг/м ² для ch14.18/CHО (динутуксимаб бета). Подтвержден сопоставимый профиль токсичности динутуксимаба бета (ch14.18/CHО) с динутуксимабом (ch14.18/SP2/O) The ch14.18/CHО (dinutuximab beta) dose was established at 20 mg/m ² . The toxicity profile of dinutuximab beta (ch14.18/CHО) was found to be comparable to that of dinutuximab (ch14.18/SP2/O)
Комбинированная терапия Combination therapy				
M.F. Ozkaynak, JCO, 2000 [40]	I	19 (после ауто-ТГСК) 19 (after auto-HSCT)	ch14.18 в дозе 20–30–40–50 мг/м ² /сут в течение 4 дней, внутривенно за 5 ч; ГМ-КСФ в дозе 250 мкг/кг/сут внутривенно (за 3 дня до начала, во время и 3 дня после окончания ch14.18) ch14.18 at a dose of 20–30–40–50 mg/m ² /day for 4 days, i.v. over 5 h; Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor at a dose of 250 µg/kg/day i.v. (starting 3 days before and continued for 3 days after the completion of the ch14.18 therapy)	Максимальная переносимая доза ch14.18 – 40 мг/м ² /сут в течение 4 дней. Дозолимитирующая токсичность: нейропатические боли, повторные эпизоды крапивницы III степени, рвота IV степени. Частота выявления НАСА – 28%. Показана возможность применения комбинации ch14.18 + ГМ-КСФ в ранние сроки после ауто-ТГСК при приемлемом профиле токсичности The maximum tolerated dose of ch14.18 was 40 mg/m ² /day for 4 days. The dose-limiting toxicity: neuropathic pain, grade 3 recurrent urticaria, grade 4 vomiting. HACA developed in 28% of cases. It was shown that the ch14.18 + granulocyte-macrophage colony-stimulating factor combination could be administered early after auto-HSCT with manageable toxicity

A.L. Gilman, JCO, 2009 [41]	I-II	25	ch14.18 в дозе 20–40 мг/м²/сут в течение 4 дней, внутривенно за 5 ч; ИЛ-2 в дозе 3 × 10⁶ МЕ/м²/сут внутривенно 96-часовой инфузией в течение 4 дней 1-й недели, далее в дозе 4,5 × 10⁶ МЕ/м²/сут внутривенно в течение 4 дней параллельно с ch14.18 на 2-й неделе (курсы 2, 4); ГМ-КСФ в дозе 250 мкг/м²/сут в дни 1–13 (курсы 1, 3, 5) ch14.18 at a dose of 20–40 mg/m²/day for 4 days, i.v. over 5 h; Interleukin-2 at a dose of 3 × 10⁶ IU/m²/day given by i.v. infusion over 96 hours for 4 days during Week 1 and at a dose of 4.5 × 10⁶ IU/m²/day i.v. for 4 days during Week 2 concurrently with the ch14.18 therapy (cycles 2, 4); Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor at a dose of 250 µg/m²/day on Days 1–13 (cycles 1, 3, 5)	Максимальная переносимая доза ch14.18 – 25 мг/м²/сут в течение 4 дней при параллельном введении ИЛ-2 в дозе 4,5 × 10⁶ Ед/м²/сут в течение 4 дней. Случаев выявления НАСА не отмечено. 13-цис-Ретиноевая кислота может безопасно применяться между курсами иммунотерапии, не повышая токсичность лечения The maximum tolerated dose of ch14.18 was 25 mg/m²/day for 4 days given concurrently with 4.5 × 10⁶ IU/m²/day of Interleukin-2 for 4 days. None of the patients developed НАСА. The 13-cis-Retinoic acid can be safely administered between immunotherapy cycles without increasing the toxicity of the treatment
A. Yu, NEJM, 2010 [25]	III	252 включены, 226 рандомизированы: 113 – стандартная ветвь, 113 – экспериментальная ветвь ch14.18 252 patients were enrolled, 226 patients were randomized to receive: 113 – standard therapy 113 – experimental therapy with ch14.18	ch14.18 в дозе 25 мг/м²/сут в течение 4 дней; грануломоноцитарный колониестимулирующий фактор в дозе 250 мкг/кг/сут (начиная за 3 дня до введения антител и в течение 14 дней) – курсы 1, 3, 5. ИЛ-2 в дозе 3,0 × 10⁶ МЕ/м²/сут в течение 4 дней 1-й недели цикла и в дозе 4,5 × 10⁶ Ед/м²/сут в течение 4 дней 2-й недели цикла (курсы 2, 4); 13-цис-Ретиноевая кислота в стандартной дозе ch14.18 at a dose of 25 mg/m²/day, for 4 days; granulocyte-macrophage colony-stimulating factor at a dose of 250 mg/kg/day (for 14 days, starting 3 days before ch14.18 was initiated) – cycles 1, 3, and 5; interleukin-2 at a dose of 3.0 × 10⁶ IU/m²/day for 4 days during Week 1, and at a dose of 4.5 × 10⁶ IU/m²/day for 4 days during Week 2 – cycles 2 and 4; 13-cis-retinoic acid at the standard dose	Двухлетняя БСВ в группе пациентов, получавших иммунотерапию и стандартную терапию: 66 ± 5% против 46 ± 5% (p = 0,01). Двухлетняя ОВ в группе пациентов, получавших иммунотерапию и стандартную терапию: 86 ± 4% против 75 ± 5% (p = 0,02). Медиана наблюдения – 2,1 года. Иммунотерапия значительно повышает выживаемость пациентов с НБ группы высокого риска The 2-year event-free survival rates in the immunotherapy and standard therapy groups were 66 ± 5% and 46 ± 5% (p = 0.01), respectively. The 2-year overall survival rates in the immunotherapy and standard therapy groups were 86 ± 4% and 75 ± 5% (p = 0.02), respectively. The median follow-up was 2.1 years. Immunotherapy was associated with significantly improved survival rates in patients with high-risk neuroblastoma
R. Ladenstein, Lancet Oncol, 2018 [26]	III	422 включены, 406 рандомизированы: 200 – терапия динутуксимабом бета, 206 – терапия динутуксимабом бета + ИЛ-2 422 patients were enrolled, 406 patients were randomized to receive: 200 – dinutuximab beta 206 – dinutuximab beta + interleukin-2	Динутуксимаб бета в дозе 20 мг/м²/сут в течение 5 дней, внутривенно за 8 ч; интерлейкин-2 в дозе 6 × 10⁶ МЕ/м²/сут подкожно в дни 1–5 и 8–12 каждого цикла; 13-цис-Ретиноевая кислота в стандартной дозе Dinutuximab beta at a dose of 20 mg/m²/day for 5 days, i.v. over 8 h; subcutaneous interleukin-2 at a dose of 6 × 10⁶ IU/m²/day on Days 1–5 and Days 8–12 of each cycle; 13-cis-Retinoic acid at the standard dose	87% пациентов в группе динутуксимаба бета получили все предписанное лечение против 62% в группе динутуксимаба бета и ИЛ-2. Трехлетняя БСВ (медиана наблюдения 4,7 года): 56% (95% ДИ: 49–63) – для пациентов, получавших динутуксимаб бета; 60% (95% ДИ: 53–66) – для пациентов, получавших динутуксимаб бета + ИЛ-2 (p = 0,76). Отсутствие доказательств положительного влияния на прогноз дополнительного применения ИЛ-2 параллельно с GD2-направленной терапией. Более выраженный профиль токсичности при применении ИЛ-2 87% of patients treated with dinutuximab beta alone completed all therapy cycles, as opposed to 62% of patients receiving dinutuximab beta and interleukin-2. The 3-year event-free survival (the median follow-up: 4.7 years): 56% (95% CI: 49–63) for patients receiving dinutuximab beta only; 60% (95% CI: 53–66) for patients receiving dinutuximab beta + interleukin-2 (p = 0.76). There was no evidence that the addition of interleukin-2 to GD2-targeted therapy helped to improve the prognosis. The regimen with interleukin-2 was associated with greater toxicity

I. Mueller, MAb, 2018 [50]	I-II	53	Динутуксимаб бета в дозе 100 мг/м² 10-дневной непрерывной инфузией внутривенно в дни 8–17; ИЛ-2 в дозе 6 × 10⁶ МЕ/м² в дни 1–5 и 8–12; 13-цис-Ретиноевая кислота в стандартной дозе в дни 19–32 Dinutuximab beta at a dose of 100 mg/m² as a 10-day continuous i.v. infusion on Days 8–17; interleukin-2 at a dose of 6 × 10⁶ IU/m² on Days 1–5 and 8–12; 13-cis-Retinoic acid at the standard dose on Days 19–32	Частота объективных ответов (полный и частичный ответы) – 40,5%. Получена лучшая переносимость при сохранении противоопухолевой активности пролонгированных инфузий динутуксимаба бета. Получены лучшие показатели выживаемости как всей когорты пациентов (n = 53), так и в подгруппе с рецидивами (n = 29) по сравнению с группой исторического контроля The objective response rate (complete and partial responses): 40.5%. Longer infusion time improved the tolerability of dinutuximab beta without impairing its anti-tumour activity. The survival rates in the entire cohort of patients (n = 53) and in the relapsed patients (n = 29) were better than in the historical controls
R. Ladenstein, LTI ASCO, 2019 [51]	III	408 рандомизированы, 205 – терапия динутуксимабом бета, 203 – терапия динутуксимабом бета + ИЛ-2 408 patients were randomized to receive: 205 – dinutuximab beta 203 – dinutuximab beta + interleukin-2	Динутуксимаб бета в дозе 100 мг/м²/курс продленной инфузией в течение 10 дней в дни 8–17; ИЛ-2 в дозе 3 × 10⁶ МЕ/м² в дни 1–5, 8, 10, 12, 14, 16; 13-цис-Ретиноевая кислота в стандартной дозе в дни 19–32 Dinutuximab beta at a dose of 100 mg/m²/cycle as a long-term infusion for 10 days on Days 8–17; Interleukin-2 at a dose of 3 × 10⁶ IU/m² on Days 1–5, 8, 10, 12, 14, 16; 13-cis-Retinoic acid at the standard dose on Days 19–32	Двухлетняя БСВ в группах, получавших динутуксимаб бета с/без ИЛ-2: 63 ± 5% против 64 ± 4% (p = 0,844); Двухлетняя ОВ в группах, получавших динутуксимаб бета с/без ИЛ-2: 74 ± 4% против 83 ± 3% (p = 0,337). Медиана наблюдения – 1,8 года. Лучший профиль токсичности в группе динутуксимаба бета. Подтвержден лучший профиль токсичности продленных инфузий ch14.18 по сравнению с короткими введениями. Отсутствие влияния ИЛ-2 на частоту объективных ответов (57% в группе динутуксимаба бета против 52%) и прогноз заболевания The 2-year event-free survival rates in the groups receiving dinutuximab beta ± interleukin-2 were 63 ± 5% and 64 ± 4% (p = 0.844); The 2-year overall survival rates in the groups receiving dinutuximab beta ± interleukin-2 were 74 ± 4% and 83 ± 3% (p = 0.337). The median follow-up was 1.8 years. The regimen with dinutuximab beta was associated with lesser toxicity. Long-term infusions of ch14.18 proved to be less toxic than short-term infusions. Interleukin-2 had no impact on the objective response rate (57% in the patients treated with dinutuximab beta alone vs 52% in the other group) and the disease prognosis
R. Ladenstein, Cancers, 2020 [27]	Ретроспективный анализ	844 включены, 466 – стандартная терапия, 378 – терапия динутуксимабом бета +/- ИЛ-2 844 patients were enrolled, 466 – standard therapy, 378 – dinutuximab beta +/- interleukin-2	Динутуксимаб бета в дозе 20 мг/м²/сут в течение 5 дней, внутривенно за 8 ч в дни 8–12; ИЛ-2 в дозе 6 × 10⁶ МЕ/м²/сут в дни 1–5 и 8–12 каждого цикла подкожно; 13-цис-Ретиноевая кислота в стандартной дозе Dinutuximab beta at a dose of 20 mg/m²/day as an i.v. infusion over 8 h for 5 days on Days 8–12; Subcutaneous interleukin-2 at a dose of 6 × 10⁶ IU/m²/day on Days 1–5 and Days 8–12 of each cycle; 13-cis-Retinoic acid at the standard dose	Пятилетняя БСВ в группах иммунотерапии и стандартной терапии изотретиноном 57% (95% ДИ: 51–62) против 42% (95% ДИ: 38–47) (p < 0,001). Пятилетняя ОВ в группах иммунотерапии и стандартной терапии изотретиноном 64% (95% ДИ: 59–69) против 50% (95% ДИ: 46–55) (p < 0,001). Медиана наблюдения – 5,8 года. Мультивариантный анализ подтвердил отсутствие проведения иммунотерапии как фактор риска рецидива/прогрессирования. Получены преимущества при терапии динутуксимабом бета, что выражается в повышении БСВ и ОВ на 15% и 14% соответственно The 5-year event-free survival rate: 57% in the immunotherapy group (95% CI: 51–62) vs 42% in the standard therapy (isotretinoin) group (95% CI: 38–47) (p < 0.001); The 5-year overall survival rate in the immunotherapy group: 64% (95% CI: 59–69) vs 50% (95% CI: 46–55) in the standard therapy group (p < 0.001). The median follow-up: 5.8 years. A multivariate analysis identified the absence of immunotherapy as a risk factor for relapse/progression. The regimen with dinutuximab beta proved beneficial, resulting in a 15% and a 14% increase in event-free survival and overall survival respectively

эффектов у пациентов отмечались тахикардия, гипертензия, лихорадка, транзиторная гипонатриемия и бессимптомная гипокалиемия, а также повышение уровня трансаминаз. Объективные ответы на терапию включали частичный ответ у 1 пациента и смешанный ответ в 4 случаях [36].

Первое мультицентровое исследование II фазы, направленное на оценку влияния химерных антител ch14.18 на показатели БСВ и общей выживаемости (ОВ) у первичных пациентов с НБ 4-й стадии в

возрасте > 1 года, было проведено Немецкой группой по лечению НБ [37, 38]. В исследование были включены 334 пациента из 2 последовательных клинических протоколов (NB90, NB97). В исследовании NB90 после завершения индукционной терапии пациентам проводились высокодозная химиотерапия и ауто-ТГСК или 12-месячная поддерживающая терапия на основе альтернирующих курсов мелфалана/этопозида и винкристина/циклофосфамида. Протокол NB97 представлял собой проспективное рандоми-

зированное исследование, направленное на сравнение высокодозной химиотерапии с последующей ауто-ТГСК по схеме СЕМ (карбоплатин, мелфалан, этопозид) и поддерживающей терапии (4 курса N7 с циклофосфамидом). В последующем все пациенты получали 6 курсов ch14.18 с интервалом в 2 мес. Препарат вводился в дозе 20 мг/м²/сут 8–12-часовой инфузией в течение 5 дней. Для целей ретроспективного анализа 334 пациента были разделены на 3 группы: 166 пациентов, получавших антитела ch14.18 (группа 1), 99 больных, получавших 12-месячную поддерживающую терапию (группа 2) и 69 пациентов, которым дополнительная терапия не проводилась (группа 3). Результаты первоначального анализа, опубликованные в 2004 г., не выявили статистически значимых различий в показателях 3-летней БСВ между группами: 46,5 ± 4,1%, 44,4 ± 4,9%, 37,1 ± 5,9% для пациентов, получавших ch14.18, поддерживающую терапию и находящихся под наблюдением, соответственно ($p = 0,314$). Мультивариантный анализ также не продемонстрировал улучшения показателей БСВ и ОВ [37]. Одним из основных ограничений данного исследования являлся его ретроспективный характер и отсутствие рандомизации пациентов. Аналогичные выводы были сделаны при анализе эффективности иммунотерапии у пациентов с НБ 4-й стадии первого года жизни [39]. Полученные данные были использованы при разработке протокола NB2004, результатом чего явился отказ от применения иммунотерапии в Германии на протяжении длительного времени.

В 2011 г. группа авторов, которая проводила первый анализ, представила отдаленные результаты лечения пациентов в возрасте > 1 года по указанным протоколам [38]. Медиана наблюдения за больными составила 11,1 года, 9-летняя БСВ – 41 ± 4%, 31 ± 5% и 32 ± 6% для пациентов, получавших ch14.18, поддерживающую терапию и находящихся под наблюдением, соответственно ($p = 0,098$). Анализ продемонстрировал улучшение прогноза у пациентов, получавших иммунотерапию, по сравнению с отсутствием дополнительного лечения ($p = 0,038$). Показатели ОВ в группе, получавшей антитела ch14.18 (9-летняя ОВ составила 46 ± 4%), превышали аналогичные показатели у больных, которым проводилась поддерживающая терапия (34 ± 5%, $p = 0,026$) или осуществлялось наблюдение (35 ± 6%, $p = 0,019$). Следует отметить, что мультивариантный анализ четко показал преимущества как иммунотерапии, так и поддерживающей терапии по сравнению с наблюдением, однако значимых различий между 2 вариантами продолжения лечения выявлено не было. Авторами был сделан вывод о том, что иммунотерапия может профилактировать поздние рецидивы заболевания [38].

Последующие клинические исследования были направлены на оценку эффективности и безопасности комбинации антител ch14.18 с цитокинами, такими как ИЛ-2 и ГМ-КСФ [30]. Так, M.F. Ozkaynak и соавт. [40] в исследовании I фазы показали возможность комбинированной терапии антителами ch14.18 и ГМ-КСФ у реципиентов ауто-ТГСК с диагнозом НБ. Максимальная переносимая доза ch14.18 составила 40 мг/м²/сут в течение 4 дней. При этом ГМ-КСФ вводился в дозе 250 мкг/кг/сут, начиная за 3 дня до введения антител, в течение курса терапии и 3 дней после последнего введения ch14.18 [40]. В исследовании A.L. Gilman и соавт. [41] была продемонстрирована возможность чередования курсов ch14.18 с ГМ-КСФ (курсы 1, 3, 5) и ИЛ-2 (курсы 2, 4). Максимальная переносимая доза оценивалась по результатам анализа токсичности второго курса и составила 25 мг/м²/сут в течение 4 дней и ИЛ-2 в дозе $4,5 \times 10^6$ Ед/м²/сут также в течение 4 дней. 13-цис-Ретиноевая кислота при назначении ее между курсами иммунотерапии не повышала токсичность.

Тестируемая в данном исследовании комбинация цитокинов и химерных антител ch14.18 стала основой рандомизированного исследования III фазы ANBL0032, организованного Children's Oncology Group (COG) [25]. Основная гипотеза исследования строилась на том, что сочетание химерных антител ch14.18 с ИЛ-2, ГМ-КСФ и 13-цис-Ретиноевой кислотой (изотретиноин) улучшит результаты лечения пациентов с НБ группы высокого риска по сравнению со стандартной постконсолидационной терапией только на основе изотретиноина. В исследование были включены 252 пациента с НБ группы высокого риска, достигших по меньшей мере частичного ответа на индукционную терапию. На проведение экспериментальной и стандартной постконсолидационной терапии были рандомизированы 226 больных в соотношении 1:1. Стандартный режим включал 6 курсов изотретиноина. Экспериментальный режим состоял из 5 4-недельных циклов иммунотерапии, в рамках которых ch14.18 вводился в дозе 25 мг/м²/сут в течение 4 дней. Циклы 1, 3, 5 включали ГМ-КСФ в дозе 250 мкг/кг/сут, начиная за 3 дня до введения антител и в течение 14 дней. Циклы 2 и 4 включали внутривенное продленное введение ИЛ-2 в дозе $3,0 \times 10^6$ Ед/м²/сут в течение 4 дней 1-й недели цикла и в дозе $4,5 \times 10^6$ Ед/м²/сут в течение 4 дней 2-й недели цикла (параллельно с ch14.18). Изотретиноин назначался в стандартной дозе в течение 14 последних дней каждого цикла иммунотерапии и в виде 1 самостоятельного цикла (суммарно 6 циклов).

Полученные результаты впервые в рамках мультицентрового рандомизированного исследования свидетельствовали о значительном преимуществе иммунотерапии по сравнению со стандартным

лечением. Медиана наблюдения составила 2,1 года; 2-летняя БСВ в группе иммунотерапии – $66 \pm 5\%$ против $46 \pm 5\%$ ($p = 0,01$), 2-летняя ОВ – $86 \pm 4\%$ против $75 \pm 5\%$ ($p = 0,02$). Следует отметить, что использованная авторами комбинация цитокинов, характеризовалась значительным числом побочных эффектов. Была зарегистрирована 1 токсическая смерть от осложнений ввиду передозировки ИЛ-2. Токсические эффекты III–IV степени включали болевой синдром (52% пациентов; 25% из 598 циклов терапии), синдром повышенной проницаемости капилляров (23% пациентов; 8% циклов терапии), реакции гиперчувствительности (25% пациентов; 15% циклов терапии). Ряд побочных эффектов (синдром повышенной проницаемости капилляров и реакции гиперчувствительности) был особенно выражен при проведении 2-го и 4-го циклов и был обусловлен токсичностью ИЛ-2 [25].

Результаты данного рандомизированного исследования наряду с дополнительным всесторонним анализом токсичности [42] позволили рассматривать иммунотерапию на основе химерного антитела ch14.18 в сочетании с ИЛ-2, ГМ-КСФ и 13-цис-Ретиноевой кислотой в качестве стандарта лечения пациентов с НБ группы высокого риска, достигших частичного ответа на индукционную терапию в Северной Америке [43]. Химерное антитело ch14.18, полученное из клеточной линии несекретирующей миеломы мыши SP2/0, было зарегистрировано Комиссией по контролю пищевых продуктов и лекарственных препаратов (Food and Drug Administration, FDA) в 2015 г. под названием динутуксимаб [44].

Интересным представляется анализ 4-летней выживаемости пациентов, проведенный А. Ю и соавт. и представленный на специализированном конгрессе по НБ (Advances in Neuroblastoma Research, ANR) в 2014 г. [45]. Статистически значимые различия в показателях 4-летней БСВ между группами отсутствовали ($59 \pm 5\%$ против $48 \pm 5\%$, $p = 0,11$), однако 4-летняя ОВ была значимо выше у пациентов, получавших иммунотерапию, по сравнению с терапией изотретиноином ($74 \pm 4\%$ против $59 \pm 5\%$, $p = 0,02$). Аналогичные результаты были получены при проведении анализа только на подгруппе больных с 4-й стадией заболевания. Авторы сделали вывод, что иммунотерапия значительно повышает выживаемость пациентов с НБ группы высокого риска, однако на фоне иммунотерапии возможно развитие поздних рецидивов.

Параллельно с исследованиями в области иммунотерапии в Северной Америке Европейская группа по оптимизации лечения НБ Международного общества детских онкологов (SIOPEN) инициировала разработку химерных анти-GD2-моноклональных антител с использованием другой клеточной линии

(клеток яичника китайского хомячка, Chinese Hamster Ovary, CHO) [32]. Доклинические исследования продемонстрировали сопоставимые характеристики ch14.18/CHO и ch14.18/SP2/0, однако антитело-зависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность ch14.18/CHO была более выражена по сравнению с антителами ch14.18/SP2/0 при использовании низких концентраций антител [32]. Последующее исследование I фазы подтвердило уже известный профиль токсичности, сопоставимый с ch14.18/SP2/0, и дозовый режим для исследований II фазы, равный $20 \text{ мг/м}^2/\text{сут}$ в течение 5 дней путем 8-часовой инфузии. Кроме того, человеческие антихимерные антитела были выявлены у 3/14 пациентов, а объективные ответы были документированы у 2 из 7 больных [46]. Полученные результаты послужили основанием для широкого применения ch14.18/CHO, получившего название динутуксимаб бета в проспективных клинических исследованиях группы SIOPEN.

В 2006 г. группой SIOPEN было открыто рандомизированное исследование, направленное на сравнение 2 режимов постконсолидационной терапии: динутуксимаб бета в сочетании с 13-цис-Ретиноевой кислотой и монотерапия 13-цис-Ретиноевой кислотой [27]. Однако в 2007 г. были представлены первые результаты исследования COG ANBL0032, четко указывающие на преимущества GD2-направленной терапии с последующей публикацией результатов A.L. Yu и соавт. в 2010 г. [25]. В свете новой информации о положительном влиянии антител ch14.18 на прогноз заболевания у пациентов с НБ группы высокого риска, экспертный совет SIOPEN посчитал проведение дальнейшей рандомизации нецелесообразным и, более того, неэтичным. Всем пациентам было рекомендовано проведение иммунотерапии с использованием динутуксимаба бета с/без ИЛ-2. При этом вопрос о роли дополнительных цитокинов, в частности ИЛ-2, оставался открытым.

Для ответа на вопрос о повышении эффективности GD2-направленной терапии за счет параллельного назначения ИЛ-2 группой SIOPEN в 2009 г. было открыто проспективное рандомизированное исследование [26]. В исследование включались пациенты с НБ группы высокого риска по критериям SIOPEN, получавшие лечение по протоколу HR-NBL1/SIOPEN, включающему индукционную терапию по схеме Rapid COJEC [47], высокодозную терапию (бусульфан/мелфалан или карбоплатин/этопозид/мелфалан) и ауто-ТГСК и лучевую терапию на ложе первичной опухоли. При этом обязательным условием являлось достижение полного или частичного метастатического ответа, последний определялся как доказанная санация костного мозга по данным миелограммы и трепанобиопсии при условии сокращения числа метайодбензилгуанидин (МЙБГ)-позитивных

очагов более чем на 50% и сохранении не более 3 активных зон, накапливающих радиофармпрепарат. Пациенты в стандартной ветви исследования ($n = 200$) получали 5 циклов динутуксимаба бета в дозе $20 \text{ мг/м}^2/\text{сут}$ в течение 5 дней 8-часовой инфузией, в экспериментальной ветви ($n = 206$) помимо динутуксимаба бета назначался ИЛ-2 в дозе $6 \times 10^6 \text{ МЕ/м}^2/\text{сут}$ в дни 1–5 и 8–12 каждого цикла подкожно. Дозовый режим и метод введения ИЛ-2 были определены в рамках ранее проведенного клинического исследования [48]. Все пациенты, включенные в исследование, получали 6 курсов 13-цис-Ретиноевой кислоты в стандартной дозе. Медиана наблюдения за пациентами составила 4,7 года. Было показано, что применение ИЛ-2 ассоциировано со значительно бóльшим числом токсических проявлений III–IV степени, включая реакции гиперчувствительности (20% против 10% при терапии динутуксимабом бета без ИЛ-2), синдром повышенной проницаемости капилляров (15% против 4%), лихорадку (40% против 14%), инфекционные осложнения (33% против 25%) и, что интересно, болевой синдром (26% против 16%). По 2 пациента в каждой группе погибли от различных осложнений. Выраженные проявления токсичности привели к тому, что только 62% пациентов, получавших динутуксимаб бета и ИЛ-2, смогли завершить всю предписанную терапию, против 87%, которым вводился только динутуксимаб бета ($p < 0,0001$). При этом значимых различий в 3-летней БСВ, являющейся первичной конечной точкой исследования, отмечено не было. Трехлетняя БСВ в группе динутуксимаба бета составила 56% (95% доверительный интервал (ДИ): 49–63) против 60% (95% ДИ: 53–66) в группе динутуксимаба бета и ИЛ-2 ($p = 0,76$). Основным выводом исследования явилось отсутствие доказательств положительного влияния на прогноз дополнительного применения ИЛ-2 параллельно с GD2-направленной терапией динутуксимабом бета при более выраженном профиле токсичности. Тем не менее авторы отметили, что отсутствие различий в показателях 3-летней БСВ могло быть обусловлено тем, что большее число пациентов из группы с ИЛ-2 не завершили все предписанные курсы терапии [26].

Как уже отмечалось ранее, в исследованиях I–II фазы было показано, что одним из способов контроля за выраженными побочными эффектами антител ch14.18 являлось снижение скорости введения препарата. Цитируемые выше исследования использовали стандартную длительность введения антител, составляющую 8 ч. Группой под руководством Н. Lode из Университетской клиники Грайфсвальда (Германия) была высказана гипотеза, что длительная 10-дневная инфузия всей курсовой дозы динутуксимаба бета приведет к улучшению

переносимости терапии за счет снижения степени выраженности токсических проявлений, в частности болевого синдрома [49]. Разработанный режим включал введение динутуксимаба бета в дозе 100 мг/м^2 10-дневной непрерывной инфузией (дни 8–17) параллельно с подкожным введением ИЛ-2 в дозе $6 \times 10^6 \text{ МЕ/м}^2$ (дни 1–5 и 8–12), а также 13-цис-Ретиноевой кислоты в стандартной дозе (дни 19–32). При оценке фармакокинетики было показано, что необходимая для обеспечения противоопухолевой активности концентрация динутуксимаба бета $\geq 1 \text{ мкг/мл}$ при использовании продленной инфузии сохранялась в образцах крови пациентов непосредственно перед следующим курсом терапии, указывая на персистенцию антител на протяжении всего периода лечения (5–6 мес) [49]. Оценка переносимости и клинической активности пролонгированного режима введения динутуксимаба бета была проведена на группе из 53 пациентов с НБ группы высокого риска, находящихся в разных фазах течения заболевания [50]. Данный режим введения характеризовался хорошей переносимостью, при этом было отмечено, что как степень выраженности болевых ощущений, так и потребность в наркотических анальгетиках (морфин) уменьшалась от цикла к циклу. В течение первого цикла терапии 64,9% пациентов часть инфузии препарата осуществлялась в амбулаторных условиях, при последующих циклах это число возрастало ($> 90\%$). Токсичность III–IV степени, встречающаяся с частотой более 10%, включала нейропатические боли (37,7%), кожный зуд (15,1%), кашель (15,1%), синдром повышенной проницаемости капилляров (13,2%). Частота объективных ответов (полный и частичный ответы) составила 40,5% [50].

Полученные данные о лучшей переносимости при сохранении противоопухолевой активности пролонгированных инфузий динутуксимаба бета послужили основанием для проведения группой SIOPEN проспективного рандомизированного исследования, направленного на изучение роли редуцированных доз ИЛ-2 у первичных пациентов с НБ группы высокого риска [51]. Пациенты рандомизировались на проведение 5 курсов динутуксимаба бета в дозе $100 \text{ мг/м}^2/\text{курс}$ путем продленных 10-дневных инфузий (дни 8–17) с/без подкожного введения ИЛ-2 в меньшей по сравнению с предыдущим исследованием дозе $3 \times 10^6 \text{ МЕ/м}^2$ (дни 1–5, 8, 10, 12, 14, 16) и изотретиноина в дозе 160 мг/м^2 (дни 19–32). Предварительные результаты исследования были представлены в 2019 г. на конгрессе Американского общества клинической онкологии (American Society of Clinical Oncology, ASCO). В исследование были включены 408 пациентов. Медиана наблюдения составила 1,8 года. Двухлетняя БСВ и ОВ в группе пациентов, не получавших ИЛ-2 ($n = 205$), и в группе больных,

которым ИЛ-2 вводился ($n = 203$), составила $64 \pm 4\%$ против $63 \pm 5\%$ ($p = 0,844$) и $83 \pm 3\%$ против $74 \pm 4\%$ ($p = 0,337$) соответственно. Следует отметить, что у пациентов с сохранением подлежащей оценке опухоли перед проведением иммунотерапии частота объективных ответов составила в 2 группах 57% и 52%, включая полные ответы у 26% и 27% пациентов соответственно. Применение ИЛ-2 ассоциировалось с более высокой частотой таких побочных эффектов терапии, как лихорадка (31% против 14%) и болевой синдром (18% и 7%). Основными выводами настоящего исследования явилось подтверждение лучшего профиля токсичности продленных инфузий динутуксимаба бета по сравнению с короткими введениями, а также отсутствие влияния на частоту объективных ответов и прогноз заболевания ИЛ-2. Таким образом, результаты данного исследования позволяют рассматривать применение продленных инфузий динутуксимаба бета в сочетании с изотретиноином в качестве стандарта постконсолидационной терапии в исследованиях группы SIOOPEN [51].

Следует отметить, что группой SIOOPEN не проводилось рандомизированное исследование в целях демонстрации преимущества иммунотерапии по сравнению со стандартной терапией изотретиноином по причинам, которые упоминались выше. Для того чтобы заполнить этот пробел и подтвердить положительное влияние иммунотерапии на долгосрочный прогноз у пациентов с НБ группы высокого риска в исследованиях SIOOPEN, был проведен ретроспективный анализ с использованием в качестве сравнения группы исторического контроля, не получавшей динутуксимаб бета [27]. В анализ были включены 844 пациента, получавших лечение по протоколу HR-NBL1. При этом группу исторического контроля составили пациенты, у которых до дня 109 от даты миелоинфузии не было отмечено неблагоприятных событий, поскольку медиана дней до начала иммунотерапии от момента ауто-ТГСК составила 109. Пятилетняя БСВ и ОВ были значимо выше у пациентов, получивших иммунотерапию, и составила 57% (95% ДИ: 51–62) против 42% (95% ДИ: 38–47) и 64% (95% ДИ: 59–69) против 50% (95% ДИ: 46–55) соответственно ($p < 0,001$). При проведении мультивариантного анализа факторами, негативно влияющими на риск рецидива и прогрессирования, наряду с видом высокодозной терапии, недостижением полного ответа до момента начала постконсолидационной терапии и наличием более 1 зоны метастатического поражения, являлось отсутствие проведения иммунотерапии ($p = 0,0002$, соотношение рисков 1,573) [27]. Полученные результаты убедительно свидетельствовали о преимуществах при проведении терапии динутуксимабом бета, выражавшихся в повышении БСВ и ОВ на 15% и 14% соответственно.

Суммируя вышесказанное, необходимо подчеркнуть, что в настоящее время отсутствуют единые показания к назначению динутуксимаба/динутуксимаба бета в качестве постконсолидационной терапии. Если в исследованиях COG основанием для назначения иммунотерапии является достижение полного, очень хорошего частичного и частичного ответов [25], то в исследованиях SIOOPEN обязательным условием является минимум частичный ответ с наличием не более 3 МЙБГ-позитивных резидуальных метастатических очагов при подтвержденной санации костного мозга [26]. Напротив, пионеры исследований в области иммунотерапии НБ из Мемориального госпиталя Слоан-Кеттеринг (Нью-Йорк, США) рекомендуют ее проведение только пациентам, достигшим полного и очень хорошего частичного ответов [23]. Последние данные о частоте объективных ответов на фоне терапии динутуксимабом бета [50, 51], возможно, приведут к расширению показаний к его назначению в будущем.

В описанных выше клинических исследованиях иммунотерапия назначалась всем пациентам, достигшим определенного ответа на индукционную ПХТ. Однако чрезвычайно важным является поиск предиктивных биомаркеров в целях выявления подгруппы больных из числа пациентов с НБ группы высокого риска, которые могли бы получить наибольшие преимущества при применении динутуксимаба бета [52, 53]. Обоснованием поиска данных маркеров является как возможность развития токсических осложнений при применении препарата, так и стоимость терапии. Как уже отмечалось, GD2 практически универсально экспрессируется на клетках НБ [20]. Тем не менее показано, что пропорция GD2-положительных клеток в опухолях варьирует [53]. Последний факт может влиять на эффективность иммунотерапии. Так, в исследовании T. Terzik и соавт. [53] из 20 пациентов, получавших иммунотерапию по протоколам COG, в 5 случаях были отмечены рецидивы заболевания в ранние сроки после завершения лечения. Сравнительный анализ продемонстрировал значительно менее выраженную экспрессию GD2 у данных пациентов по сравнению с 15 больными, у которых рецидив не был выявлен. Кроме того, *in vitro* тесты на клеточных линиях НБ показали положительную корреляцию пропорции GD2-положительных клеток и выраженности опосредованного NK-клетками лизиса опухолевых клеток в присутствии ch14.18 [53]. Интересные данные получены N. Siebert и соавт. [52] о роли полиморфизма генов Fc-гамма-рецептора (FCGR) и репертуара KIR-рецепторов (killer cell immunoglobulin-like receptor) и KIR-лигандов на противоопухолевые эффекты динутуксимаба бета и показатели БСВ у пациентов с НБ. Лучшие результаты терапии динутуксимабом бета

были достигнуты у пациентов с генотипами FCGR2A и FCGR3A, характеризующимися высокой аффинностью, а также у пациентов с комбинацией генов KIR, кодирующих активирующие рецепторы (KIR/KIRL, гаплотип В) или при наличии активирующего KIR-рецептора KIR2DS2. В основе данного феномена лежало усиление антитело-зависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности. При этом особенно выражены данные эффекты были отмечены при сочетании наличия KIR2DS2 и генотипов FCGR2A и FCGR3A, характеризующихся высокой аффинностью. Авторы подчеркивают, что данные биомаркеры могут использоваться для предсказания терапевтической эффективности иммунотерапии [52].

Если GD2-направленная иммунотерапия показала свою эффективность у пациентов с НБ группы высокого риска в первой линии лечения как этап постконсолидационной терапии, то лечение рефрактерных форм и рецидивов НБ все еще остается сложным вопросом. Эффективность данного метода лечения, место в общей схеме противорецидивной терапии, комбинация с химиопрепаратами или другими терапевтическими агентами (например, ИЛ-2), продолжает изучаться различными научными группами.

Работа коллектива исследователей COG, опубликованная в 2006 г. как исследование I фазы применения гуманизированных антител (hu14.18), конъюгированных с ИЛ-2, подтвердила безопасность, приемлемую токсичность и иммунный ответ у пациентов с GD2-позитивными злокачественными новообразованиями ($n = 27$ – рецидивы НБ и $n = 1$ – меланома) [54]. Профиль токсичности был сопоставим с исследованием, проведенным на взрослой когорте больных. Не было отмечено смертельных исходов, связанных с токсичностью. И хотя ни у одного больного не было констатировано каких-либо измеримых ответов (полных или частичных), у нескольких пациентов было показано наличие противоопухолевой активности в виде уменьшения количества метастатических очагов и атипичных клеток в костном мозге. Таким образом, доза hu14.18-IL2 12 мг/м²/сут была рекомендована для исследований II фазы [55]. В этом исследовании химерный белок hu14.18-IL2 применялся на 2 группах пациентов: 1-я группа – больные с рецидивами НБ и измеряемой опухолевой массой по данным методов визуализации (компьютерная и магнитно-резонансная томография) и 2-я группа – пациенты с рецидивами, выявленными по данным скintiграфии с ¹²³I-МИБГ и/или оценке костного мозга. В 1-й группе ($n = 13$) не было зарегистрировано ни одного ответа на проводимую терапию, во 2-й ($n = 23$) – у 5 (21,7%) пациентов отмечено достижение полного ответа длительностью наблюдения 9, 13, 20, 30 и 35 мес. Также еще 2 пациента во

2-й группе показали снижение опухолевой нагрузки. Профиль токсичности был сопоставим с другими исследованиями и контролировался терапевтическими методами. Одногодичная БСВ и ОВ была равна 26% и 63% соответственно, значимо снижаясь после первого года наблюдения, при этом при распределении пациентов по указанным 2 группам показатели выживаемости были сопоставимо низкими в обеих. Это исследование показало потенциальную эффективность указанной терапевтической комбинации у пациентов с рецидивами НБ, а также подталкивала к поиску наиболее оптимальных комбинаций с другими препаратами (например, ГМ-КСФ) [55].

Комбинация иринотекана и темозоломида рассматривается как одна из наиболее эффективных у пациентов с рецидивами/рефрактерными формами НБ, в связи с этим были предприняты попытки выбора оптимальной комбинации данных цитостатических препаратов с другими терапевтическими агентами для улучшения результатов выживаемости [56]. В качестве иммунотерапевтического агента исследователями COG был выбран препарат динутуксимаб. Рандомизированное исследование II фазы показало преимущество комбинации курсов на основе иринотекана и темозоломида с динутуксимабом против комбинации этих химиопрепаратов с ингибитором mTOR – темсиролимузом [57]. Из 17/35 пациентов, включенных в исследование и получавших комбинацию на основе иринотекана/темозоломида с динутуксимабом у 9 человек был достигнут объективный ответ (у 5 – полный и 4 – частичный). Таким образом, данный режим продемонстрировал свою потенциальную эффективность, и так как исследование было ограничено небольшой когортой больных, оно было продолжено за счет рекрутирования дополнительных пациентов. В 2020 г. были опубликованы результаты, которые включали анализ как уже описанных ранее 17 пациентов, так и дополнительно еще 36 больных, которые получали курсы иринотекана/темозоломида с динутуксимабом, вводимым внутривенно со 2-го по 5-й день цикла в комбинации с ГМ-КСФ (подкожное введение в дни 6–12) [58]. Объективные ответы (полный и частичный) были достигнуты в 41,5% ($n = 22/53$) случаев: 9/17 (52,9%) в 1-й группе и 13/36 (36,1%) – во второй. Из этих 22 пациентов 18 (81,8%) достигли ответа уже после 2-го курса терапии. Также еще у 22/53 пациентов удалось добиться стабилизации процесса. У половины больных со стабилизацией ($n = 22/53$) первичная опухоль имела большие размеры (более 8 см в диаметре). Одногодичная безрецидивная выживаемость и ОВ для всех пациентов, получающих комбинацию иринотекан/темозоломид/динутуксимаб/ГМ-КСФ, составили $67,9 \pm 6,4\%$ и $84,9 \pm 4,9\%$ соответственно. Объективные ответы наблюдались у 12/22 (54,5%) паци-

ентов с рецидивом НБ и у 10/31 (32,3%) больных с рефрактерной/прогрессирующей болезнью. При выделении пациентов ≥ 18 месяцев с 4-й стадией НБ по INSS объективные ответы были достигнуты у 21/44 (47,7%). Токсичность $\geq$ III степени включала лихорадку/инфекции (18/51, 35,3%), нейтропению (17/51, 33,3%), болевой (15/51, 29,4%) и диарейный (10/51, 19,6%) синдромы. У 1 пациента была задокументирована неприемлемая для протокола токсичность (степень IV – гипоксия) [58]. Таким образом, применение химиоиммунотерапии показало свою эффективность при рецидивах/рефрактерных формах НБ и, по мнению американских авторов, требует изучения в терапии первой линии у пациентов с НБ группы высокого риска. Однако механизмы чувствительности или резистентности к указанной комбинации еще не до конца изучены, но средняя концентрация динутуксимаба, оцениваемая перед началом второго курса терапии, была выше у ответивших на лечение пациентов [57]. Влиянием химиотерапии на микроокружение опухоли и циркулирующие иммунные клетки также можно объяснить улучшение ответа на указанную комбинацию. Так, иринотекан модулирует иммунное микроокружение путем снижения Foxp3-позитивных регуляторных Т-клеток (Treg-клетки) и миелоидных клеток-супрессоров и приводит к увеличению пролиферации продуцирующих интерферон-гамма опухоль-специфических CD8⁺-Т-клеток [59]. Низкие дозы темозоломида также снижают количество Treg-клеток [60]. Показана возможность проведения GD2-направленной терапии с различными химиопрепаратами. Так, работа S.M. Federico и соавт. из St. Jude Children's Research Hospital (Госпиталь Святого Иуды, Мемфис, Теннесси, США) показала наличие клинически значимых ответов у пациентов с рецидивами/рефрактерным течением НБ при терапии гуманизированными антителами hu14.18K322A в дозе 40 мг/м² (дни 2–5) с ГМ-КСФ и ИЛ-2 в комбинации с курсами химиотерапии: циклофосфамид/топотекан, иринотекан/темозоломид и ифосфамид/карбоплатин/этопозид и гаплоидентичными NK-клетками. Достижение положительного ответа было выявлено у 8/13 (61,5%) больных (4 полных, 1 очень хороший частичный и 3 частичных ответов), у 5 пациентов отмечена стабилизация заболевания. Десять (77%) из 13 пациентов, включенных в исследование, пережили рубеж в 12 мес [61]. Таким образом, оптимальную комбинацию химиопрепаратов, иммунотерапии и других иммуномодулирующих агентов еще предстоит изучить.

Другим аспектом применения иммунотерапии при рецидивах НБ является возможность использования ее как этапа постконсолидационной терапии для воздействия на минимальную остаточную болезнь по аналогии с планом лечения первичных паци-

ентов с НБ группы высокого риска и в итоге достижения более длительной выживаемости в рецидиве. Инициально пациентам проводится реиндукционная химиотерапия с применением различных комбинаций химиопрепаратов, показавших свою эффективность в лечении рецидивов. Данная терапия проводится для снижения опухолевой нагрузки. При достижении удовлетворительного ответа в качестве этапа консолидации возможно применение МЙБГ-терапии и/или высокодозной химиотерапии с повторной ТГСК. Как вариант выбора проводятся работы по оценке роли аллогенной или гаплоидентичной (гапло-ТГСК) ТГСК у пациентов с рецидивами/рефрактерным течением НБ, основанной на синергичном противоопухолевом эффекте высокодозной химиотерапии и иммунологического эффекта «трансплантат против опухоли» [62]. Работа P. Lang из Университетской клиники Тюбингена (Германия), опубликованная в 2006 г. [63], показала потенциальную выполнимость и низкую токсичность гапло-ТГСК у пациентов педиатрического возраста с солидными злокачественными новообразованиями (4 из 6 пациентов были с рецидивами метастатической формы НБ) [63]. В дальнейшем было продемонстрировано, что лучшие показатели выживаемости удается получить у пациентов с достижением полного или очень хорошего частичного ответа перед этапом гапло-ТГСК [64]. Применение после этапа гапло-ТГСК иммунотерапии моноклональными антителами ch14.18/СНО (динутуксимаб бета) у пациентов с рецидивами метастатической формы НБ показало не только потенциальную выполнимость данной комбинации без повышения риска хронической реакции «трансплантат против хозяина», но и улучшение противоопухолевого ответа [65]. Инфузию антител ch14.18/СНО начинали на 60–180-й день после трансплантации. Всего проводили 6 циклов иммунотерапии в суточной дозе 20 мг/м² в течение 5 дней, в циклах 4–6 дополнительно вводили ИЛ-2. У 20 (59%) из 34 пациентов, включенных в исследование, удалось улучшить ответ или достичь стабилизации заболевания. Двух- и 3-летняя выживаемость без прогрессии составили 55% и 38% соответственно при медиане наблюдения 550 дней. Наиболее частыми побочными эффектами были болевой синдром, лихорадка. Редкие побочные эффекты включали синдром повышенной проницаемости капилляров, судороги и нарушения аккомодации [65]. Таким образом, проведение иммунотерапии может быть использовано как этап постконсолидационного лечения второй линии у пациентов с рецидивами/рефрактерной формой НБ.

Исследование SIOPEN APN311-303 по применению динутуксимаба бета в виде непрерывной 10-дневной инфузии в комбинации с ИЛ-2 и 13-цис-Ретиноевой кислотой в качестве посткон-

солидационной терапии показало по сравнению с исторической когортой больных с рецидивами НБ из итальянского канцер-регистра, которые не получали иммунотерапию, лучшие отдаленные результаты терапии: 3-летняя ОВ составила 55% против 24% ($p = 0,0009$) [66].

Таким образом, в настоящее время включение иммунотерапии анти-GD2-антителами в терапевтический план ведения пациентов с рецидивами позволяет у части больных добиться улучшения ответа или стабилизации заболевания и повышения БСВ.

Вместе с тем иммунотерапия с использованием динутуксимаба бета сопряжена с целым рядом особенностей, которые необходимо учитывать при ее проведении. В первую очередь чрезвычайно важно принимать во внимание профиль токсичности препарата, включая развитие пусть и в незначительном проценте случаев жизнеугрожающих состояний. Как уже отмечалось выше, использование пролонгированных 10-дневных инфузий динутуксимаба бета в исследованиях группы SIOPEN и отказ от параллельного применения ИЛ-2 позволили значительно улучшить профиль токсичности [51]. Тем не менее лечение должно осуществляться только подготовленной командой специалистов при условии доступности врача-реаниматолога и строгом соблюдении протокола сопроводительной терапии, включающей наряду с продленным введением морфина, которое, как правило, начинают в дозе 0,03 мкг/кг/ч за 2 ч до начала инфузии моноклональных антител, применение антипиретиков, антигистаминных препаратов, ингибиторов протонной помпы и габапентина для контроля нейропатической боли [50]. Требуется осуществление четкого мониторинга витальных функций пациента (температура тела, частота сердечных сокращений, частота дыхания, артериальное давление, сатурация), контроль массы тела ребенка 2 раза в сутки. Кроме того, у лечащих врачей должен быть четкий алгоритм действий в случае развития острых реакций на препарат.

Отдаленные эффекты терапии моноклональными антителами ch14.18 изучены недостаточно полно. Большинство побочных эффектов носят обратимый характер. Вместе с тем в литературе описана возможность развития тяжелых повреждений ЦНС в виде поперечного миелита, проявления которого могут разрешаться лишь частично [67, 68].

Другой проблемой при использовании химерных человеческих/мышинных моноклональных антител является возможность формирования иммунного ответа на антитела с образованием человеческих антихимерных антител (Human Anti-Chimeric Antibody, HACA) [69]. Частота выявления HACA оценивается на уровне 19–21%, при этом влияние HACA на

общую эффективность иммунотерапии химерными антителами ch14.18 до конца не выяснено [69].

При назначении препарата у пациентов с рецидивами НБ следует учитывать тот факт, что антитела ch14.18 не проникают через гематоэнцефалический барьер. В связи с этим их применение для лечения ЦНС-рецидивов НБ представляется необоснованным. В настоящее время для терапии пациентов с ЦНС-рецидивами НБ разработаны альтернативные варианты лечения, основанные на радиоиммунотерапии [70].

Перспективы применения динутуксимаба бета связаны с поиском оптимального места данного вида лечения в мультимодальной терапии НБ группы высокого риска. Полученные у пациентов с рецидивами заболевания данные о выполнимости и безопасности параллельного введения комбинации иринотекана/темозоломида и анти-GD2-моноклональных антител, послужили основанием для изучения возможности их применения с другими режимами ПХТ, в частности требующими значительной инфузионной терапии. Результаты пилотного исследования указывают на безопасность введения динутуксимаба бета параллельно с циклами индукционной терапии Немецкой группы по изучению НБ (курсы N5, N6) [71]. Группами COG и SIOPEN планируются исследования, направленные на оценку безопасности и влияния на частоту объективных ответов, применения динутуксимаба/динутуксимаба бета со стандартными режимами индукционной ПХТ, по аналогии с исследованием St. Jude Children's Research Hospital, использующего другой тип анти-GD2-моноклональных антител [72]. Детской онкологической группой COG планируется пилотное исследование комбинации иринотекана/темозоломида и динутуксимаба в качестве постконсолидационной терапии у первичных пациентов с НБ группы высокого риска, завершивших этап высокодозной терапии и ауто-ТГСК [73].

Кроме того, проводится поиск возможных комбинаций анти-GD2-моноклональных антител с другими иммунотерапевтическими агентами в целях усиления противоопухолевой активности. Доклинические исследования указывают на потенциально синергичный эффект ингибиторов PD-1 и динутуксимаба бета [74]. Опыт применения ниволумаба и динутуксимаба бета у единичных пациентов указывает на удовлетворительную переносимость данной комбинации препаратов [75]. Однако необходимо проведение проспективных клинических исследований для демонстрации преимуществ данного режима. Синергичный эффект отмечен также при параллельном применении динутуксимаба и анти-CD105 моноклонального антитела, направленного на элиминацию клеток опухолевого микроокружения, обладающих иммуносупрессивными свойствами [76].

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что GD2-направленная иммунотерапия с использованием динутуксимаба бета, применяющаяся в качестве постконсолидационной терапии, в настоящее время позволяет достоверно улучшить прогноз у пациентов с НБ группы высокого риска, достигших ответа на терапию первой линии. Кроме того, ведутся активные исследования, направленные на поиск наиболее оптимальных сроков инициации иммунотерапии и возможности проведения химиоиммунотерапии у первичных пациентов с НБ группы высокого риска. Получены положительные результаты применения различных режимов иммунотерапии и химиоиммунотерапии у пациентов с рецидивами НБ группы высокого риска. Будущие исследования должны быть направлены на поиск дополнительных и валидацию уже выявленных биомаркеров эффек-

тивности иммунотерапии в целях селекции больных для проведения данного вида лечения, а также на активное изучение сочетанного использования динутуксимаба бета с другими иммуномодулирующими препаратами для повышения противоопухолевых эффектов моноклональных антител.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Shamanskaya T.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3767-4477>

Andreeva N.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5626-218X>

Utalieva D.T. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7479-0007>

Kachanov D.Yu. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3704-8783>

Литература

- Spix C., Pastore G., Sankila R., Stiller C.A., Steliarova-Foucher E. Neuroblastoma incidence and survival in European children (1978–1997): report from the Automated Childhood Cancer Information System project. *Eur J Cancer* 2006; 42 (13): 2081–91. DOI: 10.1016/j.ejca.2006.05.008
- Kaatsch P., Spix C. German Childhood Cancer Registry – Annual Report 2015 (1980–2014). Mainz: Institute of Medical Biostatistics, Epidemiology and Informatics (IMBEI) at the University Medical Center of the Johannes Gutenberg University Mainz; 2015.
- Pinto N.R., Applebaum M.A., Volchenboum S.L., Matthay K.K., London W.B., Ambros P.F., et al. Advances in Risk Classification and Treatment Strategies for Neuroblastoma. *J Clin Oncol* 2015; 33 (27): 3008–17. DOI: 10.1200/JCO.2014.59.4648
- Matthay K.K., Maris J.M., Schleiermacher G., Nakagawara A., Mackall C.L., Diller L., et al. Neuroblastoma. *Nat Rev Dis Primers* 2016; 2: 16078. DOI: 10.1038/nrdp.2016.78
- Matthay K.K., Reynolds C.P., Seeger R.C., Shimada H., Adkins E.S., Haas-Kogan D., et al. Long-term results for children with high-risk neuroblastoma treated on a randomized trial of myeloablative therapy followed by 13-cis-retinoic acid: a children's oncology group study. *J Clin Oncol* 2009; 27 (7): 1007–13. DOI: 10.1200/JCO.2007.13.8925
- Valteau-Couanet D., Le Deley M.C., Bergeron C., Ducassou S., Michon J., Rubie H., et al. Long-term results of the combination of the N7 induction chemotherapy and the busulfan-melphalan high dose chemotherapy. *Pediatr Blood Cancer* 2014; 61 (6): 977–81. DOI: 10.1002/pbc.24713
- Berthold F., Falduum A., Ernst A., Boos J., Dilloo D., Eggert A., et al. Extended induction chemotherapy does not improve the outcome for high-risk neuroblastoma patients: results of the randomized open-label GPOH trial NB2004-HR. *Ann Oncol* 2020; 31 (3): 422–9. DOI: 10.1016/jannonc.2019.11.011
- Matthay K.K., Atkinson J.B., Stram D.O., Selch M., Reynolds C.P., Seeger R.C. Patterns of relapse after autologous purged bone marrow transplantation for neuroblastoma: a Children's Cancer Group pilot study. *J Clin Oncol* 1993; 11 (11): 2226–33. DOI: 10.1200/JCO.1993.11.11.2226
- Качанов Д.Ю. Результаты риск-адаптированной терапии нейробластомы у детей. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2018.
- Park J.A., Cheung N.V. Targets and Antibody Formats for Immunotherapy of Neuroblastoma. *J Clin Oncol* 2020; 38 (16): 1836–48. DOI: 10.1200/JCO.19.01410
- Modak S., Cheung N.K. Disialoganglioside directed immunotherapy of neuroblastoma. *Cancer Invest* 2007; 25 (1): 67–77. DOI: 10.1080/07357900601130763
- Sait S., Modak S. Anti-GD2 immunotherapy for neuroblastoma. *Expert Rev Anti-cancer Ther* 2017; 17 (10): 889–904. DOI: 10.1080/14737140.2017.1364995
- Kholodenko I.V., Kalinovskiy D.V., Doronin I.I., Deyev S.M., Kholodenko R.V. Neuroblastoma Origin and Therapeutic Targets for Immunotherapy. *J Immunol Res* 2018; 2018: 7394268. DOI: 10.1155/2018/7394268
- Yanagisawa M., Yoshimura S., Yu R.K. Expression of GD2 and GD3 gangliosides in human embryonic neural stem cells. *ASN Neuro* 2011; 3 (2): e00054. DOI: 10.1042/AN20110006
- Lammie G.A., Cheung N.K.V., Gerald W., Rosenblum M., Cordon-Cardo C. Ganglioside GD2 expression in the human nervous system and in neuroblastomas – an immunohistochemical study. *Int J Oncol* 1993; 3 (5): 909–15. DOI: 10.3892/ijo.3.5.909
- Wondimu A., Liu Y., Su Y., Bobb D., Ma J.S., Chakrabarti L., Radoja S., et al. Gangliosides drive the tumor infiltration and function of myeloid-derived suppressor cells. *Cancer Res* 2014; 74 (19): 5449–57.
- Dobrenkov K., Ostrovskaya I., Gu J., Cheung I.Y., Cheung N.K. Oncotargets GD2 and GD3 are highly expressed in sarcomas of children, adolescents, and young adults. *Pediatr Blood Cancer* 2016; 63 (10): 1780–5.
- Wu Z., Schwartz E., Seeger R.C., Ladisch S. Expression of GD2 ganglioside by untreated primary human neuroblastomas. *Cancer Res* 1986; 46 (1): 440–3.
- Balis F.M., Busch C.M., Desai A.V., Hibbitts E., Naranjo A., Bagatell R., et al. The ganglioside G(D2) as a circulating tumor biomarker for neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 2020; 67 (1): e28031. DOI: 10.1002/pbc.28031
- Kramer K., Gerald W.L., Kushner B.H., Larson S.M., Hameed M., Cheung N.K. Disialoganglioside GD2 loss following monoclonal antibody therapy is rare in neuroblastoma. *Med Pediatr Oncol* 2001; 36 (1): 194–6. DOI: 10.1002/1096-911X(20010101)36:1<194::AID-MPO1046>3.0.CO;2-B
- Cheever M.A., Allison J.P., Ferris A.S., Finn O.J., Hastings B.M., Hecht T.T., et al. The prioritization of cancer antigens: a national cancer institute pilot project for the acceleration of translational research. *Clin Cancer Res* 2009; 15 (17): 5323–37. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0737

22. Cheung N.K., Lazarus H., Miraldi F.D., Abramowsky C.R., Kallick S., Saarinen U.M., et al. Ganglioside GD2 specific monoclonal antibody 3F8: a phase I study in patients with neuroblastoma and malignant melanoma. *J Clin Oncol* 1987; 5 (9): 1430–40. DOI: 10.1200/JCO.1987.5.9.1430
23. Cheung N.K., Cheung I.Y., Kushner B.H., Ostrovnaya I., Chamberlain E., Kramer K., et al. Murine anti-GD2 monoclonal antibody 3F8 combined with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and 13-cis-retinoic acid in high-risk patients with stage 4 neuroblastoma in first remission. *J Clin Oncol* 2012; 30 (26): 3264–70. DOI: 10.1200/JCO.2011.41.3807
24. Kushner B.H., Ostrovnaya I., Cheung I.Y., Kuk D., Modak S., Kramer K., et al. Lack of survival advantage with autologous stem-cell transplantation in high-risk neuroblastoma consolidated by anti-GD2 immunotherapy and isotretinoin. *Oncotarget* 2016; 7 (4): 4155–66. DOI: 10.18632/oncotarget.6393
25. Yu A.L., Gilman A.L., Ozkaynak M.F., London W.B., Kreissman S.G., Chen H.X., et al. Children's Oncology Group. Anti-GD2 antibody with GM-CSF, interleukin-2, and isotretinoin for neuroblastoma. *N Engl J Med* 2010; 363 (14): 1324–34. DOI: 10.1056/NEJMoa0911123
26. Ladenstein R., Pötschger U., Valteau-Couanet D., Luksch R., Castel V., Yaniv I., et al. Interleukin 2 with anti-GD2 antibody ch14.18/CHO (dinutuximab beta) in patients with high-risk neuroblastoma (HR-NBL1/SIOPEN): a multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2018; 19 (12): 1617–29. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30578-3
27. Ladenstein R., Pötschger U., Valteau-Couanet D., Luksch R., Castel V., Ash S., et al. Investigation of the Role of Dinutuximab Beta-Based Immunotherapy in the SIOPEN High-Risk Neuroblastoma 1 Trial (HR-NBL1). *Cancers (Basel)* 2020; 12 (2): 309. DOI: 10.3390/cancers12020309
28. Gillies S.D., Lo K.M., Wesolowski J. High-level expression of chimeric antibodies using adapted cDNA variable region cassettes. *J Immunol Methods* 1989; 125 (1–2): 191–202. DOI: 10.1016/0022-1759(89)90093-8
29. Barker E., Mueller B.M., Handgretinger R., Herter M., Yu A.L., Reisfeld R.A. Effect of a chimeric anti-ganglioside GD2 antibody on cell-mediated lysis of human neuroblastoma cells. *Cancer Res* 1991; 51 (1): 144–9.
30. Matthay K.K., George R.E., Yu A.L. Promising therapeutic targets in neuroblastoma. *Clin Cancer Res* 2012; 18 (10): 2740–53. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1939
31. Doronin I.I., Vishnyakova P.A., Kholodenko I.V., Ponomarev E.D., Ryazantsev D.Y., Molotkovskaya I.M., et al. Ganglioside GD2 in reception and transduction of cell death signal in tumor cells. *BMC Cancer* 2014; 14: 295. DOI: 10.1186/1471-2407-14-295
32. Zeng Y., Fest S., Kunert R., Katinger H., Pis-toia V., Michon J., et al. Anti-neuroblastoma effect of ch14.18 antibody produced in CHO cells is mediated by NK-cells in mice. *Mol Immunol* 2005; 42 (11): 1311–9. DOI: 10.1016/j.molimm.2004.12.018
33. Lode H.N., Xiang R., Dreier T., Varki N.M., Gillies S.D., Reisfeld R.A. Natural killer cell-mediated eradication of neuroblastoma metastases to bone marrow by targeted interleukin-2 therapy. *Blood* 1998; 91 (5): 1706–15.
34. Kushner B.H., Cheung N.K. GM-CSF enhances 3F8 monoclonal antibody-dependent cellular cytotoxicity against human melanoma and neuroblastoma. *Blood* 1989; 73 (7): 1936–41.
35. Handgretinger R., Anderson K., Lang P., Dopfer R., Klingebiel T., Schrappe M., et al. A phase I study of human/mouse chimeric antiganglioside GD2 antibody ch14.18 in patients with neuroblastoma. *Eur J Cancer* 1995; 31A (2): 261–7. DOI: 10.1016/0959-8049(94)00413-y
36. Yu A.L., Uttenreuther-Fischer M.M., Huang C.S., Tsui C.C., Gillies S.D., Reisfeld R.A., et al. Phase I trial of a human-mouse chimeric anti-disialoganglioside monoclonal antibody ch14.18 in patients with refractory neuroblastoma and osteosarcoma. *J Clin Oncol* 1998; 16(6): 2169–80. DOI: 10.1200/JCO.1998.16.6.2169
37. Simon T., Hero B., Faldum A., Handgretinger R., Schrappe M., Niethammer D., et al. Consolidation treatment with chimeric anti-GD2-antibody ch14.18 in children older than 1 year with metastatic neuroblastoma. *J Clin Oncol* 2004; 22 (17): 3549–57. DOI: 10.1200/JCO.2004.08.143
38. Simon T., Hero B., Faldum A., Handgretinger R., Schrappe M., Klingebiel T., et al. Long term outcome of high-risk neuroblastoma patients after immunotherapy with antibody ch14.18 or oral metronomic chemotherapy. *BMC Cancer* 2011; 11: 21. DOI: 10.1186/1471-2407-11-21
39. Simon T., Hero B., Faldum A., Handgretinger R., Schrappe M., Niethammer D., et al. Infants with stage 4 neuroblastoma: the impact of the chimeric anti-GD2-antibody ch14.18 consolidation therapy. *Klin Padiatr* 2005; 217 (3): 147–52. DOI: 10.1055/s-2005-836518
40. Ozkaynak M.F., Sondel P.M., Krailo M.D., Gan J., Javorsky B., Reisfeld R.A., et al. Phase I study of chimeric human/murine anti-ganglioside G(D2) monoclonal antibody (ch14.18) with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in children with neuroblastoma immediately after hematopoietic stem-cell transplantation: A Children's Cancer Group Study. *J Clin Oncol* 2000; 18 (24): 4077–85. DOI: 10.1200/JCO.2000.18.24.4077
41. Gilman A.L., Ozkaynak M.F., Matthay K.K., Krailo M., Yu A.L., Gan J., et al. Phase I study of ch14.18 with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-2 in children with neuroblastoma after autologous bone marrow transplantation or stem-cell rescue: a report from the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol* 2009; 27 (1): 85–91. DOI: 10.1200/JCO.2006.10.3564
42. Ozkaynak M.F., Gilman A.L., London W.B., Naranjo A., Diccianni M.B., Tenney S.C., et al. A Comprehensive Safety Trial of Chimeric Antibody 14.18 With GM-CSF, IL-2, and Isotretinoin in High-Risk Neuroblastoma Patients Following Myeloablative Therapy: Children's Oncology Group Study ANBL0931. *Front Immunol* 2018; 9: 1355. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01355
43. Park J.R., Bagatell R., London W.B., Maris J.M., Cohn S.L., Mattay K.K., et al. COG Neuroblastoma Committee. Children's Oncology Group's 2013 blueprint for research: neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 2013; 60 (6): 985–93. DOI: 10.1002/pbc.24433
44. Dhillon S. Dinutuximab: first global approval. *Drugs* 2015; 75 (8): 923–7. DOI: 10.1007/s40265-015-0399-5
45. Yu A.L., Gilman A.L., Ozkaynak M.F., Sondel P.M., London W.B., Cretella S., et al. Update of Outcome for High-Risk Neuroblastoma Treated on a Randomized Trial of chimeric Anti-GD2 Antibody (ch14.18) + GM-CSF / IL2 Immunotherapy in 1st Response: A Children's Oncology Group Study. *Proceedings of the Advances in Neuroblastoma Research Congress 2014*. Cologne, Germany. P. 108. Web access. https://www.anrmeetings.org/dl/ANR2014/ANR_2014_Infomation_Book_2014-05-08.pdf
46. Ladenstein R., Weixler S., Baykan B., Bleeke M., Kunert R., Katinger D., et al. Ch14.18 antibody produced in CHO cells in relapsed or refractory Stage 4 neuroblastoma patients: a SIOPEN Phase 1 study. *MAbs* 2013; 5 (5): 801–9. DOI: 10.4161/mabs.25215
47. Ladenstein R., Valteau-Couanet D., Brock P., Yaniv I., Castel V., Laureys G., et al. Randomized Trial of prophylactic granulocyte colony-stimulating factor during rapid COJEC induction in pediatric patients with high-risk neuroblastoma: The European HR-NBL1/SIOPEN study. *J Clin Oncol* 2010; 28 (21): 3516–24. DOI: 10.1200/JCO.2009.27.3524
48. Ladenstein R., Pötschger U., Siablis D., Garaventa A., Bergeron C., Lewis I.J., et al. Dose finding study for the use of subcutaneous recombinant interleukin-2 to augment natural killer cell numbers in an outpatient setting for stage 4 neuroblastoma after megatherapy and autologous stem-cell reinfusion. *J Clin Oncol* 2011; 29 (4): 441–8. DOI: 10.1200/JCO.2009.23.5465
49. Siebert N., Eger C., Seidel D., Jüttner M., Zumpe M., Wegner D., et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ch14.18/CHO in relapsed/refractory high-risk neuroblastoma patients treated by long-term infusion in combination with IL-2. *MAbs* 2016; 8 (3): 604–16. DOI:

- 10.1080/19420862.2015
50. Mueller I., Ehler K., Endres S., Pill L., Siebert N., Kietz S., et al. Tolerability, response and outcome of high-risk neuroblastoma patients treated with long-term infusion of anti-GD(2) antibody ch14.18/CHO. *MAbs* 2018; 10 (1): 55–61. DOI: 10.1080/19420862.2017.1402997
51. Ladenstein R., Poetschger U., Valteau-Couanet D., Gray J., Luksch R., Balwier W., et al. Randomization of dose-reduced subcutaneous interleukin-2 (scIL2) in maintenance immunotherapy (IT) with anti-GD2 antibody dinutuximab beta (DB) long-term infusion (LTI) in front-line high-risk neuroblastoma patients: Early results from the HR-NBL1/SIOOPEN trial. *J Clin Oncol* 2019; 37 (15): 10013.
52. Siebert N., Jensen C., Troschke-Meurer S., Zumpe M., Jüttner M., Ehler K., et al. Neuroblastoma patients with high-affinity FCGR2A, -3A and stimulatory KIR 2DS2 treated by long-term infusion of anti-GD2 antibody ch14.18/CHO show higher ADCC levels and improved event-free survival. *Oncoimmunology* 2016; 5 (11): e1235108. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1235108
53. Terzic T., Cordeau M., Herblot S., Teira P., Cournoyer S., Beaunoyer M., et al. Expression of Disialoganglioside (GD2) in Neuroblastic Tumors: A Prognostic Value for Patients Treated with Anti-GD2 Immunotherapy. *Pediatr Dev Pathol* 2018; 21 (4): 355–62. DOI: 10.1177/1093526617723972
54. Osenga K.L., Hank J.A., Albertini M.R., Gan J., Sternberg A.G., Eickhoff J., et al. Children's Oncology Group A phase I clinical trial of the hu14.18-IL2 (EMD 273063) as a treatment for children with refractory or recurrent neuroblastoma and melanoma: a study of the Children's Oncology Group. *Clin Cancer Res* 2006; 12 (6): 1750–9. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2000
55. Shusterman S., London W., Gillies S., Hank J., Voss S., Seeger R., et al. Antitumor activity of hu14.18-IL2 in patients with relapsed/refractory neuroblastoma: a Children's Oncology Group (COG) phase II study. *J Clin Oncol* 2010; 28 (33): 4969–75. DOI: 10.1200/JCO.2009.27.8861
56. Bagatell R., London W.B., Wagner L.M., Voss S.D., Stewart C.F., Maris J.M., et al. Phase II study of irinotecan and temozolomide in children with relapsed or refractory neuroblastoma: a Children's Oncology Group study. *J Clin Oncol* 2011; 29 (2): 208–13. DOI: 10.1200/JCO.2010.31.7107
57. Mody R., Naranjo A., Ryn C., Yu A., London W., Shulkin B., et al. Irinotecan-temozolomide with temsirolimus or dinutuximab in children with refractory or relapsed neuroblastoma (COG ANBL1221): an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2017; 18 (7): 946–57. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30355-8
58. Mody R., Yu A., Naranjo A., Zhang F.F., London W.B., Shulkin B.L., et al. Irinotecan, Temozolomide, and Dinutuximab With GM-CSF in Children With Refractory or Relapsed Neuroblastoma: A Report From the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol* 2020; 38 (19): 2160–9. DOI: 10.1200/JCO.20.00203
59. Iwai T., Sugimoto M., Wakita D., Yorozu K., Kurasawa M., Yamamoto K. Topoisomerase I inhibitor, irinotecan, depletes regulatory T cells and up-regulates MHC class I and PD-L1 expression, resulting in a supra-additive antitumor effect when combined with anti-PD-L1 antibodies. *Oncotarget* 2018; 9 (59): 31411–21. DOI: 10.18632/oncotarget.25830
60. Heynckes S., Daka K., Franco P., Gaebele A., Frenking H.J., Doria-Medina R., et al. Crosslink between temozolomide and PD-L1 immune-checkpoint inhibition in glioblastoma multiforme. *BMC Cancer* 2019; 19 (1): 117. DOI: 10.1186/s12885-019-5308-y
61. Federico S.M., McCarville M.B., Shulkin B., Sondel P., Hank J.A., Hutson P., et al. A Pilot Trial of Humanized Anti-GD2 Monoclonal Antibody (hu14.18K322A) with Chemotherapy and Natural Killer Cells in Children with Recurrent/Refractory Neuroblastoma. *Clin Cancer Res* 2017; 23 (21): 6441–9. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0379
62. Kanold J., Paillard C., Tchirkov A., Merlin E., Marabelle A., Lutz P., et al. Allogeneic or haploidentical HSCT for refractory or relapsed solid tumors in children: toward a neuroblastoma model. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42 Suppl 2: S25–30. DOI: 10.1038/bmt.2008.279
63. Lang P., Pfeiffer M., Müller I., Schumm M., Ebinger M., Koscielniak E., et al. Haploidentical stem cell transplantation in patients with pediatric solid tumors: preliminary results of a pilot study and analysis of graft versus tumor effects. *Klin Padiatr* 2006; 218 (6): 321–6. DOI: 10.1055/s-2006-942256
64. Illhardt T., Toporski J., Feuchtinger T., Turkiewicz D., Teltschik H., Ebinger M., et al. Haploidentical Stem Cell Transplantation for Refractory/Relapsed Neuroblastoma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; 24 (5): 1005–12. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.12.805
65. Lang P., Illhardt T., Ebinger M., Schlegel P., Teltschik H.M., Feuchtinger T., et al. Haploidentical stem cell transplantation and subsequent immunotherapy with antiGD2 antibody for patients with relapsed metastatic neuroblastoma. *J Clin Oncol* 2015; 33 (15 Suppl): 10056. DOI: 10.1200/jco.2015.33.15_suppl.10056
66. European Medicines Agency. European public assessment report (EPAR), Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) assessment report: Dinutuximab beta Apeiron (Qarziba®), EMA/263814/2017, 23 March 2017.
67. Barcikowski J., Fitzgerald M.P., Jaffe A.M., Mowery D. Poster 463 Unexpected Transverse Myelitis after Dinutuximab Therapy for Relapsed Neuroblastoma: A Case Report. *PM R* 2016; 8 (9S): S311. DOI: 10.1016/j.pmrj.2016.07.384
68. Ding Y.Y., Panzer J., Maris J.M., Castañeda A., Gomez-Chiari M., Mora J. Transverse myelitis as an unexpected complication following treatment with dinutuximab in pediatric patients with high-risk neuroblastoma: A case series. *Pediatr Blood Cancer* 2018; 65 (1). DOI: 10.1002/pbc.26732
69. Siebert N., Troschke-Meurer S., Marx M., Zumpe M., Ehler K., Gray J., et al. Impact of HACA on Immunomodulation and Treatment Toxicity Following ch14.18/CHO Long-Term Infusion with Interleukin-2: Results from a SIOOPEN Phase 2 Trial. *Cancers (Basel)* 2018; 10 (10): 387. DOI: 10.3390/cancers10100387
70. Kramer K., Kushner B.H., Modak S., Pandit-Taskar N., Tomlinson U., Wolden S.L., et al. A curative approach to central nervous system metastases of neuroblastoma. *J Clin Oncol* 2017; 35 (15): 10545. DOI: 10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.10545
71. Lode H., Eggert A., Ladenstein R., Riesebeck S., Siebert N., Dworzak M., et al. Combination of Ch14.18/CHO and GPOH Induction Chemotherapy Cycles in Refractory Relapsed or Progressing High Risk Neuroblastoma Patients. *Proceedings of the Advances in Neuroblastoma Research Congress* 2018. San Francisco, USA; 2014. P. 61.
72. Furman W.L., Federico S.M., McCarville M.B., Shulkin B.L., Davidoff A.M., Krasin M.J., et al. A Phase II Trial of Hu14.18K322A in Combination with Induction Chemotherapy in Children with Newly Diagnosed High-Risk Neuroblastoma. *Clin Cancer Res* 2019; 25 (21): 6320–8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1452
73. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04385277. Treatment With Dinutuximab in Combination With Irinotecan and Temozolomide After Intensive Therapy for People With High-Risk Neuroblastoma. Assessed 15.07.2020.
74. Siebert N., Zumpe M., Jüttner M., Troschke-Meurer S., Lode H.N. PD-1 blockade augments anti-neuroblastoma immune response induced by anti-GD(2) antibody ch14.18/CHO. *Oncoimmunology* 2017; 6 (10): e1343775. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1343775
75. Ehler K., Hansjuergens I., Zinke A., Otto S., Siebert N., Henze G., et al. Nivolumab and dinutuximab beta in two patients with refractory neuroblastoma. *J Immunother Cancer* 2020; 8 (1): e000540. DOI: 10.1136/jitc-2020-000540
76. Wu H.W., Sheard M.A., Malvar J., Fernandez G.E., DeClerck Y.A., Blavier L., et al. Anti-CD105 Antibody Eliminates Tumor Microenvironment Cells and Enhances Anti-GD2 Antibody Immunotherapy of Neuroblastoma with Activated Natural Killer Cells. *Clin Cancer Res* 2019; 25 (15): 4761–74. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3358

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-189-193

Возможности, проблемы и перспективы применения телемедицинских технологий в области детской онкогематологии

А.А. Иванова, Е.В. Завалева, А.В. Павлюк, Г.А. Новичкова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Телемедицина представляет собой услугу здравоохранения в ситуациях, когда расстояние является критическим фактором как для оказания медицинской помощи населению, так и для непрерывного образования медицинских работников. В современных условиях при наличии значительной удаленности территорий, выраженного дефицита кадров на местах, а также необходимости принятия диагностически и терапевтически сложных решений, требующих наличия многопрофильной команды, телемедицина позволяет в дистанционном режиме оперативно оказывать населению высококвалифицированную медицинскую помощь. Таким образом, телемедицина сегодня является инструментом, оптимизирующим логистику оказания медицинской помощи и снижающим финансовые затраты клиник. В статье представлен краткий отчет о деятельности НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева по направлению «телемедицина», а также обозначены ведущие проблемы и перспективы данной работы.

Ключевые слова: телемедицина, телемедицинские консультации, видео-конференц-связь, детская онкогематология, информационные технологии в медицине

Иванова А.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 189–193.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-189-193

Possibilities, difficulties and prospects for using telemedicine technologies in the field of pediatric oncohematology

А.А. Ivanova, E.V. Zavaleva, A.V. Pavluk, G.A. Novichkova

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Telemedicine is an integral health service in conditions when distance is a critical factor for both the delivery of medical care and the physicians' trainings. Nowadays due to significant location remoteness, a pronounced personnel shortage as well as the necessity to make complex diagnostic and therapeutic decisions that often require a multidisciplinary communication, telemedicine allows to promote the quick delivery of quality medical services. Telemedicine today is a tool that may be considered to optimize the logistics of medical care and to reduce the financial costs of clinics. The article presents a brief report on the Center's activities in the field of "telemedicine" and identifies the main difficulties and prospects for this work.

Key words: telemedicine, telemedicine consultations, video conferencing, pediatric oncohematology, information technologies in medicine

Ivanova A.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 189–193.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-189-193

В настоящее время в системе российского здравоохранения происходит формирование принципиально нового подхода к взаимодействию между клиниками различных регионов России и специализированными медицинскими организациями, именуемого телемедициной [1, 2].

За рубежом данное направление берет свое активное начало с 50-х годов XX века, а в 1970 г. профессор Гарвардского университета Kenneth Timothy Bird (Массачусетс, США) – научный идеолог мировой телемедицины – сформулировал концепцию национальной телемедицинской сети, основанной на применении видео-конференц-связи [3]. Позже, в 1972 г., американский инженер Christopher D. Stockbridge провел детальное изучение возможно-

стей системы передачи различных видов медицинской информации "Picturephone", которое впоследствии позволило разработать методику использования дистанционных интерактивных консультаций для удаленного осмотра пациентов [4, 5].

На территории Западной Европы широкое распространение программа «Телемед» получила в 90-е годы прошлого столетия. В рамках этой программы было предусмотрено активное развитие телеонкологии и телеобучения, что и было реализовано в таких странах, как Италия, Германия, Бельгия, Голландия, Дания [5].

Свою богатую историю телемедицина имеет и в России. Так, масштабное становление клинической телекардиологии на Европейском континенте с

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 02.12.2019
Принята к печати 28.02.2020

Контактная информация:

Иванова Анна Аркадьевна, д-р мед. наук, профессор, заместитель генерального директора – директор Института управления и телемедицинских технологий ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: a.ivanova@fcocho-moscow.ru

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 02.12.2019

Accepted 28.02.2020

Correspondence:

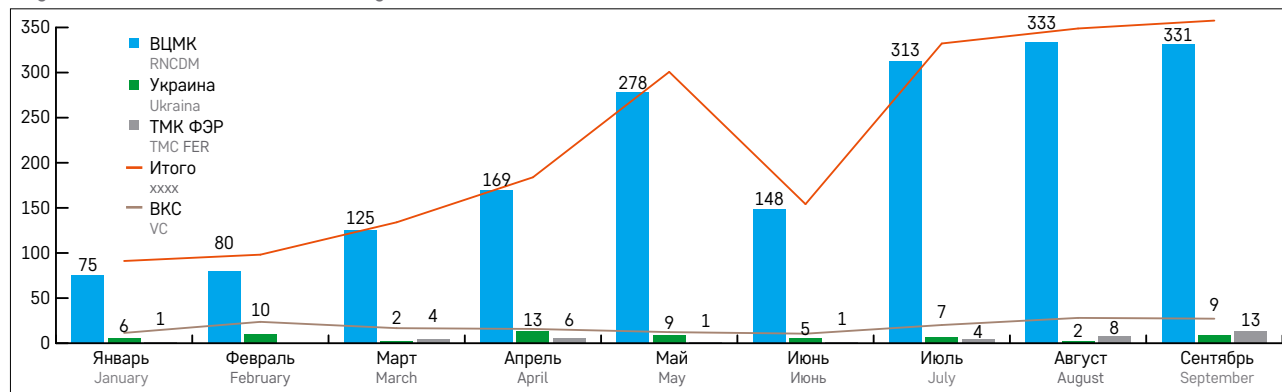
Anna A. Ivanova, Dr. med. sci, Professor, Deputy Director General, Director of the Institute of Management and Telemedicine Technologies at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation
Address: Russia, 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
E-mail: a.ivanova@fcocho-moscow.ru

Рисунок 1

Обращаемость регионов Российской Федерации за проведением консультаций с использованием телемедицинских технологий за период январь–сентябрь 2019 г. ВЦМК – Всероссийский центр медицины катастроф; ТМК – телемедицинские консультации; ФЭР – федеральные электронные регистры; ВКС – видео-конференц-связь

Figure 1

The frequency of requests from the Russian regions for telemedicine consultations, from January to September 2019. RNCMD – Russian National Center for Disaster Medicine; TMC – telemedicine consultations; FER – Federal Electronic Registries; VC – video conferencing



60-х годов XX века связано прежде всего с именами советских ученых Э.Ш. Халфена и О.М. Радюка. В 1961 г. под руководством С.З. Горшкова «медицинское телевидение» внедрили в Первом Московском Ордена Ленина медицинском институте (ныне ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет)) [3]. С тех пор технология телемедицины стала более автономной и удобной в использовании, при этом существенно улучшилось ее качество и снизились затраты на применение.

Однако в широком смысле телемедицину в России и сегодня можно рассматривать как новое и перспективное направление, несмотря на то, что оно уже является неотъемлемой частью современного здравоохранения и имеет доказанный положительный клиничко-экономический эффект [1, 6].

В современных условиях при наличии соответствующей нормативно-правовой базы [7, 8], оснащения, выраженного дефицита кадров на местах [9], значительной удаленности территорий телемедицина позволяет в дистанционном режиме оперативно оказывать населению высококвалифицированную медицинскую помощь.

Поскольку в стране имеется существенный недостаток детских врачей-онкологов, врачей-гематологов, а лечение онкогематологических пациентов требует многопрофильной команды, внедрение и дальнейшее развитие дистанционных технологий в данной области является необходимым и актуальным [10]. При этом важно отметить, что телемедицина не является заменой и альтернативой врачу, а решение кадрового вопроса продолжает оставаться одним из приоритетных [9].

В ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России работа в данном направлении

активно ведется с 2012 г. Основными профилями телемедицинских консультаций являются следующие:

- детская онкология/гематология;
- детская иммунология;
- детская хирургия/онкология;
- гистология, морфология;
- референс магнитно-резонансной, компьютерной и позитронно-эмиссионной томографии;
- клеточные технологии.

По запросу врачей из регионов специалисты НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева осуществляют мониторинг состояния клинически сложных пациентов (часто с комбинированной патологией) после или во время проведения этапа (блока) химиотерапии или иного вида лечения (например, лучевой терапии, оперативного вмешательства), а также консультируют профильных больных, резистентных к стандартной терапии и/или находящихся в критическом состоянии. Часто целью консультации является определение объема и характера дополнительных методов исследования, коррекции сопроводительной терапии [10, 11]. В ряде случаев в процесс диагностики и лечения пациентов привлекаются ведущие специалисты Европы (Италия, Великобритания, Норвегия, Германия), США (Бостон, Нью-Йорк), Японии (Токио), что позволяет существенно сократить сроки постановки диагноза и начала терапии от нескольких недель до нескольких дней или часов.

На рисунке 1 представлена статистика обращаемости регионов Российской Федерации за период январь–сентябрь 2019 г. Всего поступило 1953 обращения, из которых 171 – для консультаций по видео-конференц-связи.

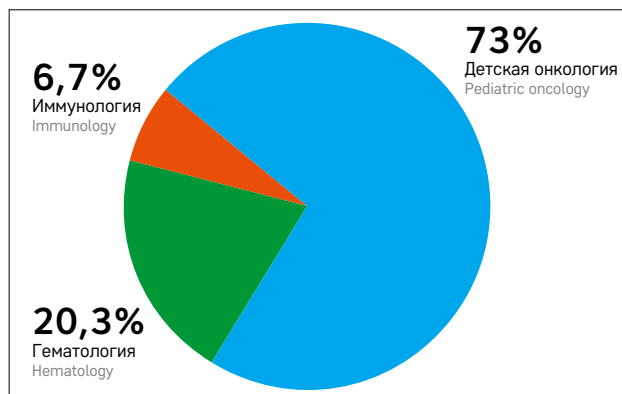
Распределение запросов на проведение телемедицинских консультаций в зависимости от профиля оказания медицинской помощи («детская онкология»,

Рисунок 2

Распределение запросов в зависимости от профиля медицинской помощи

Figure 2

The distribution of requests by area of medical care



«гематология» и «иммунология») представлено на рисунке 2.

Наибольшее количество обращений на проведение заочных консультаций посредством информационных технологий поступило из Пермского края, Свердловской области, Ханты-Мансийского автономного округа – Югры, Приморского края и Амурской области.

В 80,4% запросов от общего числа обращений были даны рекомендации по дальнейшей тактике лечения, обследования и/или мониторинга состояния пациента и только в 19,6% запросов – на госпитализацию в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. В связи с вышесказанным можно сделать вывод, что большинство обращений не требуют оказания высокотехнологичной медицинской помощи, пациенты могут начать или продолжать терапию по месту жительства, а проведение дорогостоящих методов диагностики не всегда требует направления пациента в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева и возможно путем отправки биологического материала. В случае необходимости специалисты НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева всегда оказывают консультативную помощь лечащим врачам на местах с использованием современных информационных технологий. Таким образом, около 80% традиционных очных консультаций могут быть успешно заменены на телемедицинские [10, 11].

Интересным и перспективным направлением работы являются консультации по вопросам организации и планирования трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Ранее подобные консультации проводились специалистами Центра исключительно в очной форме, что значительно удлиняло сроки начала проведения терапии.

Критически важными в детской онкологии/гематологии являются удаленные патоморфологические и визуализирующие исследования. Необходимо отметить, что каждый третий референс гистологического материала и каждый десятый референс визуализирующих методов исследования, по нашим данным,

связан с изменением направляющего клинического диагноза, что требует решения вопроса о повышении квалификации кадров на местах и дополнительного их обучения, например, в форме стажировок на рабочем месте.

Высокая активность сотрудников НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в плане оказания дистанционных консультаций как в очной (онлайн, в режиме видео-конференц-связи), так и в заочной (офлайн) формах выявила определенные трудности, с которыми приходится сталкиваться достаточно часто, несмотря на проводимую работу с регионами.

Условно их можно разделить на 3 группы: технического, организационного и содержательного характера (рисунки 3).

Наиболее частыми проблемами являются отсутствие актуального статуса пациента, нарушение методики выполнения и отправки рентгенологических методов исследования, неточность формулировок диагностических заключений и целей консультации, дублирование информации (избыточное число файлов). Присланная медицинская документация должна четко соответствовать основным принципам своего предоставления, а именно:

- качество (четкость, контрастность);
- полнота сведений;
- объективность (независимый анализ информации консультантом);
- критичность – предоставление только той информации, которая имеет клиническое значение.

Более того, ряд удаленных территорий до сих пор не имеют возможности подключить высокоскоростной Интернет или подключаются к Интернету с помощью старой релейной связи.

Важно отметить, что даже при условии предоставления необходимого объема информации в правильном формате онкогематологические консультации требуют больших временных затрат: для постановки/уточнения диагноза, определения тактики лечения и/или необходимого дообследования специалистов, как правило, требуется проведение предварительного пересмотра (референса) данных визуализирующих методов исследований и/или гистологического материала. В связи с вышесказанным занятость врача-рентгенолога референсной работой составляет от 15 до 40 ч/мес, что составляет от 2,5 до 7,5 рабочей смены переработки. Как показывает практика, на 1 пациента врачам-рентгенологам требуется от 45 мин до 1 ч и более, а у патологов и врачей лабораторной диагностики длительность изучения материала может занимать от 3 до 10 дней и более.

При недостатке данных о пациенте, объективном или субъективном нарушении целостности, объема, адекватности исходных данных врач-эксперт обязан

Рисунок 3

Трудности при оказании консультаций посредством применения телемедицинских технологий

Figure 3

Challenges in telemedicine

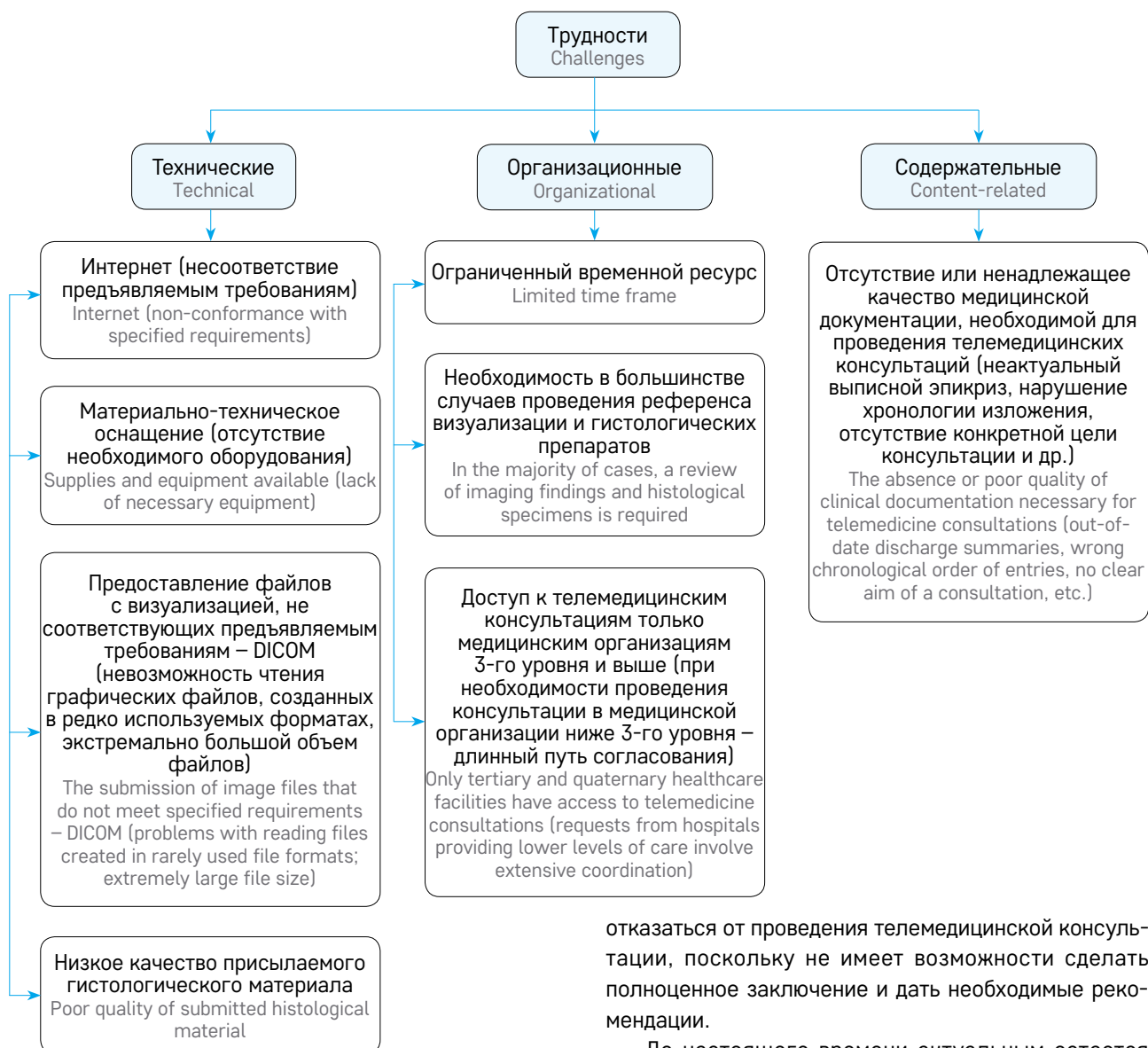
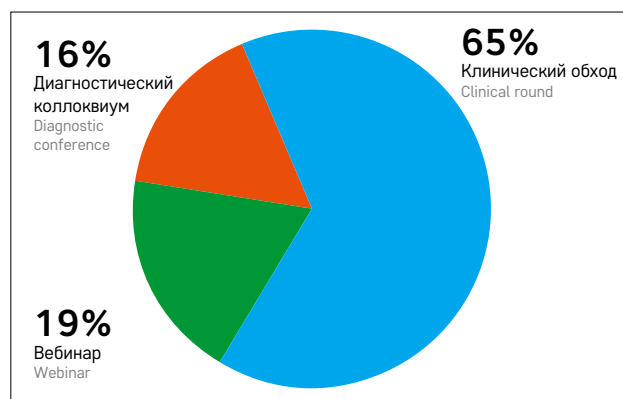


Рисунок 4

Научно-практические мероприятия, проведенные в период январь–сентябрь 2019 г.

Figure 4

Scientific and practical events carried out between January and September 2019



отказаться от проведения телемедицинской консультации, поскольку не имеет возможности сделать полноценное заключение и дать необходимые рекомендации.

До настоящего времени актуальным остается вопрос дифференцированного подхода к разработке тарифов оказания экстренных и плановых, очных и заочных телемедицинских консультаций, а также создания единых форм оформления медицинской документации (заключений/консилиумов врачей).

Посредством комплекса современных информационных технологий (телемедицины) сотрудниками и преподавателями НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева ежемесячно организуются научно-образовательные семинары в различных форматах: круглые столы, «вопрос-ответ», разбор клинических случаев, трансляции конференций с возможностями «живой» хирургии. С января по сентябрь 2019 г. в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева проведено 31 подобное мероприятие, участниками которых стали врачи из 13 наиболее активно участвующих субъектов (рисунки 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Невзирая на существующие, но потенциально разрешимые сложности, необходимо признать, что телемедицина является инструментом, оптимизирующим логистику оказания медицинской помощи и снижающим финансовые затраты клиник. Безусловно, для этого требуются и разработка определенного документооборота (положение, регламент, график работы, формы протоколов), и проведение оценки технического состояния медицинских организаций, и обучение соответствующих кадров на местах, и формирование бюджета, и разработка критериев эффективности, и определение показаний по профилю «онкогематология» (включая отсутствие специалиста, атипичное течение, рецидив заболевания, географическую удаленность и др.). Данные мероприятия позволят объединить территориально разрозненные, но функционально взаимосвязанные медицинские учреждения, сочетающие в себе лечебные, диагностические, исследовательские и образовательные возможности для оказания специализированной, в том числе высокотехнологичной, профильной медицинской помощи, значительно

снизят частоту госпитализаций онкогематологических пациентов, а также существенно расширят возможности участия специалистов из регионов в научно-образовательной деятельности. Более того, внедрение телекоммуникационных инноваций обеспечит преемственность в работе медицинских организаций различного уровня – муниципального, регионального и федерального – и создаст перспективы для формирования единого информационного пространства по направлению «онкогематология», объединяющего данные о профильных пациентах, находящихся на различных этапах лечения или под наблюдением в различных медицинских учреждениях страны.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Ivanova A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6532-6875>

Zavaleva E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5305-9394>

Pawluk A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6532-6875>

Novichkova G.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>

Литература

1. Лемешко В.А., Тепцова Т.С. Телемедицина: здравоохранение делает шаг в будущее. Медицинские технологии. Оценка и выбор 2017; 4 (30): 30–8.
2. Панова Т.В. Информационные технологии в российской медицине: перспективы и возможности. Экономика и управление народным хозяйством 2017; 5 (50): 53–6.
3. Владимирский А.В. Телемедицина: Curatio Sine Tempora et Distantia. М.; 2016.
4. Stockbridge C.D. Experience of Picturephone systems usage in hospitals. Application of optical Instrumentation in Medicine II 1974; 43: 179–90.
5. Леванов В.М., Камаев И.А., Железин О.В., Гребенкина Е.В. Предпосылки создания онкологического сегмента региональной телемедицинской сети. Организация здравоохранения и общественное здоровье 2018; 6 (57): 21–5.
6. Doolittle G.C., Allen A. Practising oncology via telemedicine. J Telemed Telecare 1997; 3 (2): 63–70. DOI: 10.1258/1357633971930869
7. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 30 ноября 2017 г. №965н (последняя редакция) «Об утверждении порядка организации и оказания медицинской помощи с применением телемедицинских технологий» [Электронный источник]. URL: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71751294/>.
8. Федеральный закон от 29 июля 2017 г. №242-ФЗ (последняя редакция) «О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации по вопросам применения информационно-телекоммуникационных технологий и введения электронных форм документов в сфере здравоохранения» [Электронный источник]. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_221184/.
9. Hortobagyi G.N.; American Society of Clinical Oncology. A shortage of oncologists? The American Society of Clinical Oncology workforce study. J Clin Oncol. 2007; 25 (12): 1468–9. DOI: 10.1200/JCO.2007.10.9397
10. McSwain S.D., Bernard J., Burke B.L. Jr, Cole S.L., Dharmar M., Hall-Barrow J., et al. American Telemedicine Association Operating Procedures for Pediatric Telehealth. Telemed J E Health 2017; 23 (9): 699–706. DOI: 10.1089 / tmj.2017.0176
11. Жерносек В.Ф., Дюбкова Т.П., Почкайло А.С. Телекоммуникационные технологии в педиатрии. Наука и инновации 2017; 2 (168): 44–8.

Правила оформления статей

1. Статья должна быть представлена в электронном виде (в отдельных файлах: текст статьи со списком литературы, таблицы, графики, рисунки, подписи к рисункам, резюме).

Все страницы пронумерованы.

Шрифт – Times New Roman, 14 пунктов, 1,5 интервала.

2. На 1-й странице: название статьи, инициалы и фамилии всех авторов, полное название учреждений, в которых выполнена работа, их полный адрес с индексом.

В конце статьи: контактные телефоны, рабочий адрес с указанием индекса, факс, адрес электронной почты и фамилия, имя, отчество, занимаемая должность, ученая степень, ученое звание авторов.

3. Объем статей: оригинальная – не более 12 стр.; описание наблюдений, заметки из практики – не более 5 стр.; обзор литературы – до 20 стр.

К статье должно быть приложено резюме на русском и английском языках: название статьи, фамилии и инициалами авторов, название учреждений, содержание работы; для оригинальных статей – структурированное резюме (введение, материалы и методы, результаты и т.д.). Объем резюме – до 1500 знаков с пробелами; количество ключевых слов – до 10.

4. Иллюстративный материал:

- фотографии должны быть контрастными; рисунки, графики и диаграммы – четкими;

- фотографии представляются в оригинале или электронном виде в формате TIFF, JPG, CMYK с разрешением не менее 300 dpi (точек на дюйм);

- графики, схемы и рисунки – в формате EPS. Adobe Illustrator 7.0-10.0.

- Все рисунки должны быть пронумерованы и снабжены подрисуночными подписями на отдельном листе, фрагменты рисунка обозначаются строчными буквами русского алфавита. Все сокращения и обозначения, использованные на рисунке, должны быть расшифрованы в подрисуночной подписи;

- все таблицы пронумерованы, иметь название; все сокращения расшифрованы в примечании к таблице;

- ссылки на таблицы, рисунки и др. иллюстративные материалы приводятся по тексту статьи в круглых скобках.

5. Единицы измерений даются в СИ.

Аббревиатуры в тексте полностью расшифрованы при первом употреблении. Использование необ-

щепринятых сокращений не допускается. Название генов пишется курсивом, название белков – обычным шрифтом.

6. Список цитируемой литературы:

- список ссылок в порядке цитирования; все источники пронумерованы, их нумерация должна строго соответствовать нумерации в тексте статьи;

- для каждого источника необходимо указать: фамилии и инициалы авторов (если авторов более 6, указывают первые 6, далее «и др.» в русском или «et al.» – в английском тексте);

- при ссылке на статьи из журналов указывают название статьи; журнала, год, том, номер выпуска, страницы;

- при ссылке на монографии указывают полное название книги, место издания, название издательства, год издания;

- при ссылке на авторефераты диссертаций – полное название работы, докторская или кандидатская, год и место издания;

- при ссылке на данные, полученные из Интернета, указывают электронный адрес цитируемого источника;

- все ссылки на литературные источники печатают арабскими цифрами в квадратных скобках: например [5];

- количество цитируемых работ: в оригинальных статьях желательно не более 20-25 источников, в обзорах литературы – не более 60.

7. Представление в редакцию ранее опубликованных статей не допускается.

8. Все статьи, в том числе подготовленные аспирантами и соискателями ученой степени кандидата наук по результатам собственных исследований, принимаются к печати бесплатно, в порядке общей очереди.

Статьи, не соответствующие данным требованиям, к рассмотрению не принимаются.

Все поступающие статьи рецензируются.

Присланные материалы обратно не возвращаются.

Редакция оставляет за собой право на редактирование статей, представленных к публикации.

Электронная почта: journal@fnkc.ru

Вид грибов рода <i>Candida</i>	Минимальная ингибирующая концентрация, мг/л (Европейские данные)
<i>Candida albicans</i>	[0,007 – 0,25]
<i>Candida glabrata</i>	[0,007 – 0,12]
<i>Candida tropicalis</i>	[0,007 – 0,12]
<i>Candida krusei</i>	[0,015 – 0,12]
<i>Candida kefyr</i>	[0,03 – 0,06]
<i>Candida parapsilosis</i>	[0,12 – 2]
<i>Candida guilliermondii</i>	[0,5]
<i>Candida lusitanae</i>	[0,12 – 0,25]
<i>Candida</i> spp. (в том числе <i>C. famata</i> , <i>C. dubliniensis</i> , <i>C. lipolytica</i> , <i>C. pelliculosa</i> , <i>C. rugosa</i> , <i>C. stellatoidea</i> и <i>C. zeylanoides</i>)	[0,015 – 0,5]

Информация для специалистов здравоохранения с распространением на специализированных мероприятиях.
Имеются противопоказания, перед назначением препарата Микамин® ознакомьтесь с инструкцией по медицинскому применению. Инструкция доступна на сайте: <http://grls.rosminzdrav.ru>, по состоянию на июнь 2020.

* Если у пациента наблюдается недостаточный ответ — например, в посевах продолжает обнаруживаться возбудитель или клиническое состояние не улучшается — дозу можно увеличить до 200 мг/сутки у пациентов с массой тела > 40 кг или до 4 мг/кг/сутки у пациентов с массой тела ≤ 40 кг.

Режим дозирования препарата Микамин® у детей в возрасте ≥ 4 месяцев и подростков в возрасте < 16 лет:

Показание	Масса тела > 40 кг	Масса тела ≤ 40 кг
Лечение инвазивного кандидоза	100 мг/день*	2 мг/кг/день*
Профилактика кандидоза	50 мг/день	1 мг/кг/день

Показание к применению	
Лечение инвазивного кандидоза	4–10 мг/кг/сутки*

Таблица. Приготовление раствора для инфузий.

готовый раствор для инфузий вводит внутривенно капельно в течение около 1 часа. Более быстрая инфузия может увеличивать риск гистамин-опосредованных реакций. **Восстановленный раствор во флаконе:** Химическая и физическая стабильность сохраняется до 48 при 25°С, если в качестве растворителя используется 0,9% раствор хлорида натрия или 5% раствор декстрозы. **Готовый раствор для инфузий:** Химическая и физическая стабильность сохраняется до 96 часов при 25°С если обеспечивается защита от света, а в качестве растворителя используется 0,9% раствор хлорида натрия или 5% раствор декстрозы. Максимум содержит консервантов. Приготовленные растворы следует использовать немедленно. В нормальное время хранения не должно превышать 24 ч при температуре от 2 до 8°С. **Побочные действия:** При анализе данных по безопасности в зависимости от пола или расы не было выявлено клинически значимых различий. Нежелательные реакции по разным органам и системам с указанием частоты приведены ниже: часто: $\geq 1/100$ - $< 1/10$, нередко: $\geq 1/1000$ - $< 1/100$, редко: $\geq 1/10\,000$ - $< 1/1000$, частота неизвестна (невозможно оценить на основании имеющихся данных). В рамках каждой группы реакции перечислены по мере снижения степени тяжести: сердечная недостаточность, стойкое повышение артериального давления, гипертония, инсульт, нарушение зрения, почечная недостаточность, тромбоцитопения, эозинофилия, гипонатриемия; редкие: гемолитические анемии, гемолиз, частота неизвестна; диссеминированное внутрисосудистое свертывание. Нарушения со стороны иммунной системы нечасто: анафилактические/анафилоидные реакции, реакция гиперчувствительности. Эндокринные нарушения нечасто: потливость. Нарушения метаболизма и питания часто: гипокальциемия, гипомagneмизм, гипокалициемия; нечасто: гипонатризм, гиперкальциемия, гипофосфатемия, анорексия. Психические нарушения нечасто: бессонница, тревожность, спутанность сознания. Нарушения со стороны нервной системы часто: головная боль; нечасто: сонливость, тремор, головокружение, извращение вкуса. Нарушения со стороны сердца нечасто: тахикардия, учащенное сердцебиение, брадикардия. Нарушения со стороны сосудов часто: фибрилция (предпочтительно у ВИЧ-инфицированных пациентов с периферическими катетерами); нечасто: артериальная гипотензия, артериальная гипертензия, приливы; частота неизвестна; shock. Нарушения со стороны дыхательной системы, органов грудной клетки и средостения нечасто: одышка. Желудочно-кишечные нарушения часто: тошнота, рвота, диарея, боль в животе; нечасто: диспепсия, запор. Нарушения со стороны печени и желчевыводящих путей часто: повышение активности щелочной фосфатазы, повышение активности аспартатаминотрансферазы, повышение активности аланинаминотрансферазы, повышение концентрации билирубина в сыворотке крови; нечасто: гепатит, желтуха; частота неизвестна. Изменения функции лабораторных тестов часто: лейкопения, нейтропения, эритроцитопения, снижение гемоглобина, гамма глобулинпреципитация, желтуха, холестаз, гепатомагния, гелятит; частота неизвестна: гепатоцеллюлярные поражения, в т.ч., случаи летального исхода. Нарушения со стороны кожи и подкожных тканей часто: сыпь, нечасто: крапивница, зуд, эритема, частота неизвестна: токсические высыпания на коже, многоформная сыпь, синдром Стивенса-Джонсона, токсический эпидермальный некролиз. Нарушения со стороны почек нечасто: мочевоодводящих путей нечасто: повышение концентрации креатинина, мочевины в сыворотке крови, прогрессирование почечной недостаточности; частота неизвестна: нарушение почечной функции, острая почечная недостаточность. Общие нарушения и реакции в месте введения: местная аллергия.

МИКАМИН®

первый

эхинокандин, зарегистрированный в России
для профилактики кандидоза после аллогенной
трансплантации кроветворных стволовых клеток
или у больных, у которых предполагается нейтропения
(количество нейтрофилов <500/мкл) в течение
10 дней и более.*¹⁻³



МИКАМИН®
микафунгин



АО «Астеллас Фарма»
Россия, 109147, Москва,
ул. Марксистская, 16.
Тел.: +7 (495) 737-07-56

1. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Микамин® ЛСР-009005/09 от 10.11.2009
 2. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Кансидас® П N014909/01 от 31.03.2008
 3. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Эраксис® ЛП-001066 от 27.10.2011
- Информация для специалистов здравоохранения с распространением на специализированных мероприятиях.
Перед применением препарата Микамин® ознакомьтесь с инструкцией по медицинскому применению (доступна на www.grls.rosminzdrav.ru).
* Дата регистрации 10.11.2009 (данные www.grls.rosminzdrav.ru)

РЕКЛАМА 6+

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ, ПЕРЕД НАЗНАЧЕНИЕМ НЕОБХОДИМО ОЗНАКОМИТЬСЯ С ИНСТРУКЦИЕЙ