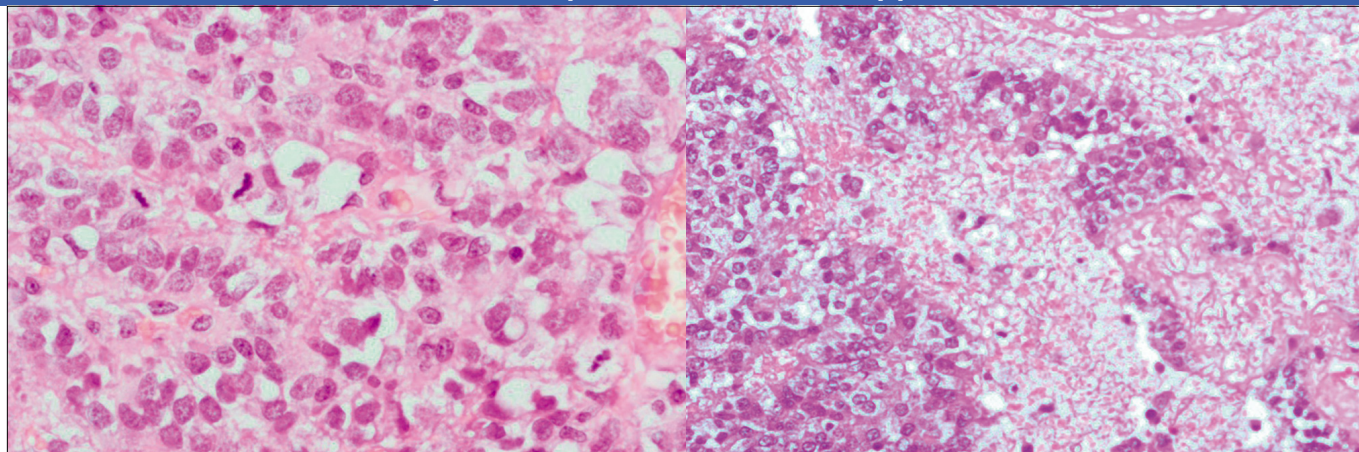


Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии

№ 1 | 20 | 2021

научно-практический журнал



Гистологическая картина злокачественной эпителиальной опухоли. Из статьи Э.Ф. Валиахметовой и соавт., с. 66

27

Прогностическая роль различных перестроек 11q23/*KMT2A* у детей первого года жизни с острым лимфобластным лейкозом

Prognostic significance of various 11q23/*KMT2A* rearrangements in infants with acute lymphoblastic leukemia

46

Иммунофенотипическая характеристика острого миелоидного лейкоза с *inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFβ-MYH11* у детей

Immunophenotypic characterization of pediatric acute myeloid leukemia with *inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFβ-MYH11*

91

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей с лимфобластной лимфомой

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with lymphoblastic lymphoma



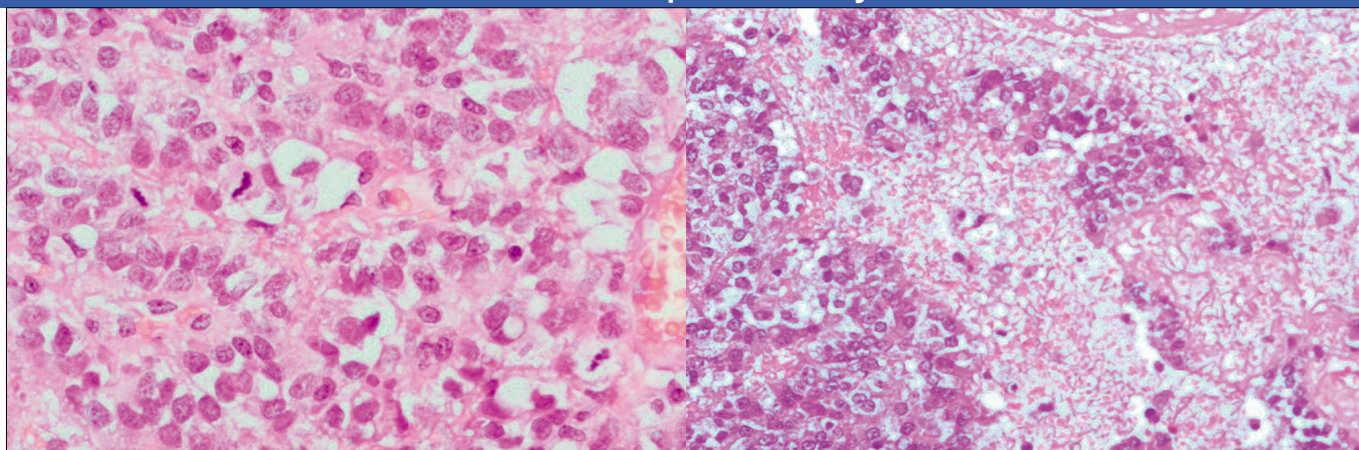
НАУКА —
ДЕТЯМ



Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology

№ 1 | 20 | 2021

scientific and practical journal



The histology of a malignant epithelial tumor. From the article by A.F. Valiakhmetova et al., p. 66

27

Prognostic significance of various 11q23/*KMT2A* rearrangements in infants with acute lymphoblastic leukemia

46

Immunophenotypic characterization of pediatric acute myeloid leukemia with inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/*CBFβ-MYH11*

91

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with lymphoblastic lymphoma



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 © 2021 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

© 2021 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) 211-04-82
www.hemoncim.com
E-mail: journal@fnkc.ru
Advertising department: +7 (495) 211-04-82

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) 211-04-82
www.hemoncim.com E-mail: journal@fnkc.ru
По вопросам рекламы: +7 (495) 211-04-82

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

№ 1 | том 20 | 2021



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, Чикаго, 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. Rumyantsev
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. Rumyantsev
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

Kryzhanovsky 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

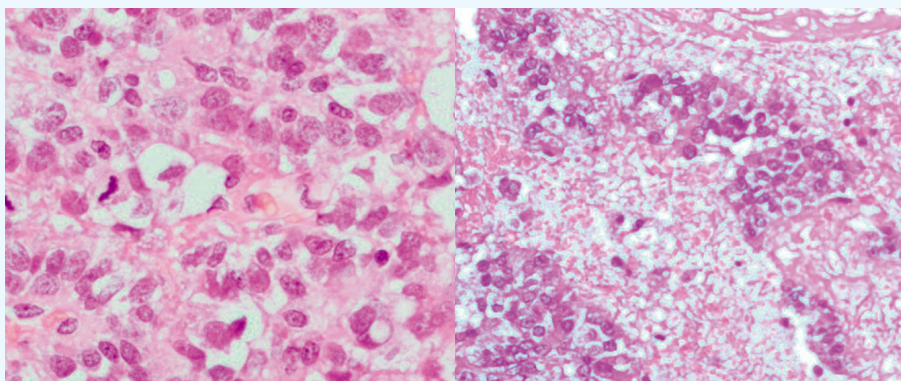
Henze G.
Professor, Berlin, Germany

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

Содержание

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, 2021, 20 (1)

Оформление обложки:



Гистологическая картина злокачественной эпителиальной опухоли

Из статьи Э.Ф. Валиахметовой и соавт. (с. 66)

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Острый лимфобластный лейкоз у детей с синдромом Дауна: опыт группы «Москва–Берлин» 14

Р.Н. Супрун, Ю.В. Румянцева, О.И. Быданов, Л.И. Жарикова, С.Н. Лагойко, В.В. Лебедев, К.Л. Кондратчик, К.С. Асланян, О.В. Алейникова, Л.Г. Фечина, Г.В. Быкова, Н.И. Пономарева, Н.В. Мякова, А.М. Попов, Ю.В. Ольшанская, А.Н. Казакова, А.А. Масчан, Г.А. Новичкова, А.И. Карачунский

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Прогностическая роль различных перестроек 11q23/*KMT2A* у детей первого года жизни с острым лимфобластным лейкозом 27

Г.А. Цаур, Т.О. Ригер, А.М. Попов, А.М. Кустанович, Ю.В. Ольшанская, Т.В. Наседкина, А.Г. Солодовников, Е.В. Шориков, А.С. Демина, О.М. Плеханова, Е.С. Нохрина, Т.Ю. Вержбицкая, О.В. Стрелева, О.В. Макарова, О.Р. Аракаев, Л.И. Савельев, О.В. Алейникова, Е.С. Лапотентова, Н.В. Мякова, В.В. Фоминых, К.Л. Кондратчик, Е.Г. Бойченко, Н.И. Пономарева, А.И. Карачунский, А.Г. Румянцев, Л.Г. Фечина

Результаты использования кладрибина у детей с острым миелоидным лейкозом при лечении по протоколу ОМЛ-ММ-2006 40

Д.А. Венёв, И.И. Калинина, Т.Ю. Салимова, Д.А. Евсеев, В.Е. Матвеев, К.С. Антонова, У.Н. Петрова, Д.Д. Байдильдина, Г.А. Новичкова, М.А. Масчан, А.А. Масчан

Иммунофенотипическая характеристика острого миелоидного лейкоза с *inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFβ-MYH11* у детей 46

Е.В. Михайлова, С.А. Кашпор, Е.А. Зеркаленкова, А.А. Семченкова, М.Э. Дубровина, Ю.В. Ольшанская, С.А. Плясунова, И.И. Калинина, М.А. Масчан, А.А. Масчан, Г.А. Новичкова, А.М. Попов

Bone changes during and after treatment of childhood acute lymphoblastic leukaemia 54

S. Ragab, B. Montaser, N. El-Ashmawy, M. El-Hawy

Особенности пула хранения и морфологии тромбоцитов у детей с неуточненным геморрагическим синдромом 58

Д.М. Полохов, А.В. Пшонкин, А.А. Игнатова, Е.А. Пономаренко, Д.В. Федорова, М.Ю. Алексенко, К.А. Воронин, Е.А. Серегина, А.В. Полетаев, Г.А. Новичкова, М.А. Пантелеев, П.А. Жарков

Хориоидкарцинома у детей 66

Э.Ф. Валиахметова, Л.И. Папуша, А.В. Санагоева, Л.В. Шишкина, О.И. Быданов, Г.А. Новичкова, С.К. Горелышев, А.И. Карачунский

Рабдомиосаркома у детей первого года жизни. Опыт ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России 76

Т.В. Страдомская, Д.Ю. Качанов, Н.С. Грачев, А.В. Нечеснюк, М.В. Телешова, Д.Г. Ахаладзе, С.Р. Талыпов, Т.В. Шаманская, С.Р. Варфоломеева, Г.А. Новичкова

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей с лимфобластной лимфомой 91

А.В. Козлов, И.В. Казанцев, Т.В. Юхта, П.С. Толкунова, А.Г. Геворгян, И.Ю. Николаев, А.Н. Галибин, О.И. Богданова, Д.А. Звягинцева, М.С. Голенкова, А.Н. Швецов, В.В. Байков, Ю.А. Пунанов, Е.В. Морозова, А.Д. Кулагин, Н.Б. Михайлова, Л.С. Зубаровская

Молекулярные механизмы инициирования и модуляции аутоиммунного процесса микроорганизмами 99

Е.П. Киселева, К.И. Михайлопуло, Г.И. Новик, Н.Ф. Сорока

Клинический анализ видеоизображения базовых двигательных стереотипов «КЛАВИР» для оценки двигательных нарушений у пациентов детского возраста и подростков с острым лимфобластным лейкозом 114

Н.Н. Митраков, А.В. Щербуха, П.А. Шафран, К.А. Воронин, О.А. Лайшева

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Клинические наблюдения тиопурин-индуцированной миелотоксичности у пациентов с острыми лейкозами и обоснование преимуществ фармакогенетического подхода при назначении 6-меркаптопурина 128

А.К. Игнатова, И.И. Калинина, Д.А. Евсеев, К.С. Антонова, Г.А. Новичкова, А.А. Масчан

Атипичное течение бартонеллеза с гепатолиенальным поражением 136

М.А. Луныкова, В.Г. Демихов, Н.В. Инякова, Е.А. Панина

В поисках редкой болезни: врожденные гемангиомы 145

Л.А. Хачатрян, И.И. Чиквина, И.С. Клецкая

- Псевдоопухоль верхней челюсти у ребенка первого года жизни как первое проявление гемофилии В** 156

М.П. Калинина, А.В. Пшонкин, Н.С. Грачев, А.В. Полетаев, Д.В. Федорова, П.А. Жарков

- Редкий случай нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием, развившейся через 5 лет после успешного лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы** 162

М.А. Сенченко, Д.С. Абрамов, А.Е. Руднева, Е.В. Волчков, Г.А. Насирдинова, Д.А. Гобадзе, Н.В. Мякова, Д.М. Коновалов

- Case report of mesenteric lymphadenopathy in Gaucher disease: rare and benign complication** 168

M. Khalili, M. Gholamzadeh Baeis, M. Alaei

ШКОЛА ИММУНОЛОГА – МНЕНИЕ ЭКСПЕРТА

- Редкий ОВИН-подобный фенотип при аутоиммунном лимфопролиферативном синдроме** 170

О.А. Швеиц, Е.А. Деордиева, М.А. Курникова, Д.Е. Першин, А.М. Киева, А.В. Пшонкин, Н.С. Сметанина, А.Ю. Щербина

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

- Причины перевода и смертности у детей с онкогематологическими заболеваниями, поступивших в отделение интенсивной терапии** 180

Ф.С. Алиева, М.С. Мулдахметов, Б.К. Нурмагамбетова

- Тромбоциты при COVID-19: «случайные прохожие» или соучастники?** 184

О.И. Ан, А.А. Мартыянов, М.Г. Степанян, А.Е. Болдова, С.А. Румянцев, М.А. Пантелеев, Ф.И. Атауллаханов, А.Г. Румянцев, А.Н. Свешникова

- Просто о сложном: инфантильная гемангиома** 192

Л.А. Хачатрян, И.С. Клецкая

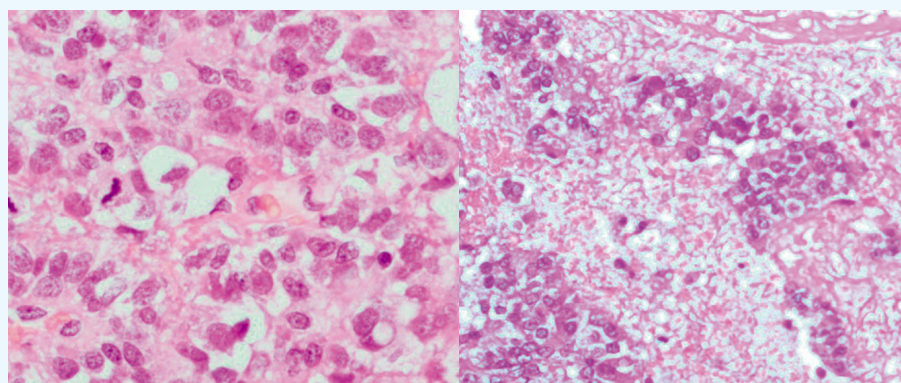
- Анализ тромбоцитарной РНК: неинвазивный метод изучения экспрессии опухолевых генов** 207

И.П. Тесаков, А.А. Мартыянов, А.Е. Друй, А.Н. Свешникова

- Вспомогательные репродуктивные технологии и параметры здоровья детей** 218

Ю.Г. Самойлова, М.В. Матвеева, И.А. Петров, Д.А. Кудлай, М.С. Давыдова, К.Р. Раткина, Е.В. Мицеля, Т.В. Сиволобова, Ж.Ф. Гайфулина

Cover design:



***The histology
of a malignant
epithelial tumor***

From the article
by A.F. Valiakhmetova
et al. (p. 66)

ADVANCED RESEARCH

Acute lymphoblastic leukemia in children with Down syndrome: “Moscow–Berlin” experience

14

R.N. Suprun, Yu.V. Roumiantseva, O.I. Bydanov, L.I. Zharikova, S.N. Lagoiko, V.V. Lebedev, K.L. Kondratchik, K.S. Aslanyan, O.V. Aleynikova, L.G. Fechina, G.V. Bykova, N.I. Ponomareva, N.V. Myakova, A.M. Popov, Yu.V. Olshanskaya, A.N. Kazakova, A.A. Maschan, G.A. Novichkova, A.I. Karachunskiy

ORIGINAL ARTICLE

Prognostic significance of various 11q23/*KMT2A* rearrangements in infants with acute lymphoblastic leukemia

27

G.A. Tsaur, T.O. Riger, A.M. Popov, A.M. Kustanovich, Yu.V. Olshanskaya, T.V. Nasedkina, A.G. Solodovnikov, E.V. Shorikov, A.S. Demina, O.M. Plekhanova, E.S. Nokhrina, T.Yu. Verzhbitskaya, O.V. Strenева, O.V. Makarova, O.R. Arakaev, L.I. Seveliev, O.V. Aleinikova, E.S. Lapotentova, N.V. Myakova, V.V. Fominykh, K.L. Kondratchik, E.G. Boichenko, N.I. Ponomareva, A.I. Karachunskiy, A.G. Roumiantsev, L.G. Fechina

Results of the use of cladribine in children with acute myeloid leukemia in the treatment according to the AML-MM-2006 protocol

40

D.A. Venyov, I.I. Kalinina, T.Yu. Salimova, D.A. Evseev, V.E. Matveev, K.S. Antonova, U.N. Petrova, D.D. Baidildina, G.A. Novichkova, M.A. Maschan, A.A. Maschan

Immunophenotypic characterization of pediatric acute myeloid leukemia with *inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFβ-MYH11*

46

E.V. Mikhailova, S.A. Kashpor, E.A. Zerkalenskova, A.A. Semchenkova, M.E. Dubrovina, S.A. Plyasunova, Yu.V. Olshanskaya, I.I. Kalinina, M.A. Maschan, A.A. Maschan, G.A. Novichkova, A.M. Popov

Bone changes during and after treatment of childhood acute lymphoblastic leukaemia

54

S. Ragab, B. Montaser, N. El-Ashmawy, M. El-Hawy

Specificities of the storage pool and morphology of platelets in children with unspecified hemorrhagic syndrome 58

D.M. Polokhov, A.V. Pshonkin, A.A. Ignatova, E.A. Ponomarenko, D.V. Fedorova, M.Yu. Aleksenko, K.A. Voronin, E.A. Seregina, A.V. Poletaev, G.A. Novichkova, M.A. Panteleev, P.A. Zharkov

Choroid plexus carcinoma in children 66

A.F. Valiakhmetova, L.I. Papusha, A.V. Sanakoeva, L.V. Shishkina, O.I. Budanov, G.A. Novichkova, A.I. Karachunskiy

Rhabdomyosarcoma in the first year of life. Experience of Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology 76

T.V. Stradomskaya, D.Yu. Kachanov, N.S. Grachev, A.V. Nechesnyuk, M.V. Teleshova, D.G. Akhaladze, S.R. Talyov, T.V. Shamanskaya, S.R. Varfolomeeva, G.A. Novichkova

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with lymphoblastic lymphoma 91

A.V. Kozlov, I.V. Kazantsev, T.V. Yukhta, P.S. Tolkunova, A.G. Gevorgyan, I.Yu. Nikolayev, A.N. Galibin, O.I. Bogdanova, D.A. Zvyagintseva, M.S. Golenkova, A.N. Shvetsov, V.V. Baykov, Yu.A. Punanov, E.V. Morozova, A.D. Kulagin, N.B. Mikhaylova, L.S. Zubarovskaya

Molecular mechanisms of induction and acceleration of autoimmunity by microorganisms 99

E.P. Kiseleva, K.M. Mikhailopulo, G.I. Novik, N.F. Soroka

Clinical analysis of video recordings of the basic motor patterns (CLAVIR) for the assessment of movement disorders in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia 114

N.N. Mitrakov, A.V. Shcherbukha, P.A. Shafran, K.A. Voronin, O.A. Laysheva

CLINICAL OBSERVATION

Thiopurine-induced myelotoxicity in patients with acute leukemia and benefits of preemptive pharmacogenetic testing prior to 6-mercaptopurine prescription 128

A.K. Ignatova, I.I. Kalinina, D.A. Evseev, K.S. Antonova, G.A. Novichkova, A.A. Maschan

Atypical presentation of bartonellosis with hepatolienal lesions 136

M.A. Lunyakova, V.G. Demikhov, N.V. Inyakova, E.A. Panina

Rapidly involuting congenital hemangioma 145

L.A. Khachatryan, I.I. Chikvina, I.S. Kletskaya

Pseudotumor of the maxilla as first presentation of hemophilia B in a 1-year-old male 156

M.P. Kalinina, A.V. Pshonkin, N.S. Grachev, A.V. Poletaev, D.V. Fedorova, P.A. Zharkov

A rare case of nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma, which developed 5 years after successful treatment of diffuse large B-cell lymphoma 162

M.A. Senchenko, D.S. Abramov, A.E. Rudneva, E.V. Volchkov, G.A. Nasirdinova,
D.A. Gobadze, N.V. Myakova, D.M. Konovalov

Case report of mesenteric lymphadenopathy in Gaucher disease: rare and benign complication 168

M. Khalili, M. Gholamzadeh Baeis, M. Alaei

SCHOOL OF IMMUNOLOGY – EXPERT OPINION

Rare CVID-like phenotype of autoimmune lymphoproliferative syndrome 170

O.A. Shvets, E.A. Deordieva, M.A. Kurnikova, D.E. Pershin, A.M. Kieva,
A.V. Pshonkin, N.S. Smetanina, A.Yu. Shcherbina

LITERATURE REVIEW

Causes of transfer and mortality in children with oncohematological diseases admitted to the intensive care unit 180

F.S. Aliyeva, M.S. Muldahmetov, B.K. Nurmagambetova

Platelets in COVID-19: “innocent by-standers” or active participants? 184

O.I. An, A.A. Martyanov, M.G. Stepanyan, A.E. Boldova, S.A. Rumyantsev,
M.A. Panteleev, F.I. Ataullakhanov, A.G. Rumyantsev, A.N. Sveshnikova

Infantile hemangioma explained in simple terms 192

L.A. Khachatryan, I.S. Kletskaya

Analysis of platelet RNA: a non-invasive method for studying the expression of tumor genes 207

I.P. Tesakov, A.A. Martyanov, A.E. Drui, A.N. Sveshnikova

Assisted reproductive technologies and children's health parameters 218

Yu.G. Samoilova, M.V. Matveeva, I.A. Petrov, D.A. Kudlay, M.S. Davydova,
K.R. Ratkina, E.V. Mitselya, T.V. Sivolobova, Zh.F. Gaifulina

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 15.01.2021
Принята к печати 02.02.2021

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-14-26

Острый лимфобластный лейкоз у детей с синдромом Дауна: опыт группы «Москва–Берлин»

Р.Н. Супрун¹, Ю.В. Румянцева^{2, 3}, О.И. Быданов^{2, 4}, Л.И. Жарикова^{2, 3}, С.Н. Лагойко², В.В. Лебедев¹, К.Л. Кондратчик^{3, 5}, К.С. Асланян⁶, О.В. Алейникова^{2, 4}, Л.Г. Фечина⁷, Г.В. Быкова⁸, Н.И. Пономарева³, Н.В. Мякова², А.М. Попов², Ю.В. Ольшанская², А.Н. Казакова², А.А. Масчан^{2, 3}, Г.А. Новичкова², А.И. Карачунский^{2, 3}

¹ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» Министерства здравоохранения Краснодарского края, Краснодар

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

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

⁴ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Республика Беларусь, Минский р-н, д. Боровляны

⁵ГБУЗ г. Москвы «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

⁶ГБУ РО «Областная детская клиническая больница», Ростов-на-Дону

⁷ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург

⁸ГБУЗ СК «Краевая детская клиническая больница», Ставрополь

Контактная информация:

Карачунский Александр Исаакович,
д-р мед. наук, профессор, заместитель
генерального директора – директор
Института онкологии, радиологии
и ядерной медицины ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail:
alexandr.karachunski@fccho-moscow.ru

Синдром Дауна (СД) является одним из наиболее распространенных хромосомных нарушений. Дети с СД имеют повышенный риск развития острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ). При СД-ОЛЛ обычно используется стандартная терапия, однако результат лечения больных с данной патологией хуже, чем таковой в общей популяции. Особую проблему составляет высокая токсичность терапии. Цель: представить опыт лечения ОЛЛ у больных с СД по оригинальному отечественному протоколу «Москва–Берлин». Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В анализ включены первичные пациенты с ОЛЛ в возрасте от 1 года до 18 лет, получавшие терапию в клиниках России и Белоруссии, участвующих в исследовании «Москва–Берлин» с января 2008 г. по декабрь 2020 г. Для оценки результатов терапии группы пациентов с СД была сформирована группа сравнения из всех пациентов с ОЛЛ, зарегистрированных в базе данных (БД). Для минимизации различий между группами был применен метод подбора пар (matched-pair method) с помощью специально написанной программы. Всего в БД за указанный промежуток времени зарегистрировано 8296 пациентов с ОЛЛ. Из них пациентов с СД было 135 (1,63%). Преобладающая возрастная группа пациентов с СД-ОЛЛ – 3–10 лет. Среди них не было ни одного пациента с Т-клеточным ОЛЛ и значимо реже встречались как благоприятные, так и неблагоприятные генетические аномалии. Не обнаружено различий в раннем ответе на терапию между пациентами с СД-ОЛЛ и не-СД-ОЛЛ. Бессобытийная ($61 \pm 6\%$) и общая ($74 \pm 4\%$) выживаемость пациентов с СД-ОЛЛ была существенно ниже, чем в группе сравнения ($84 \pm 3\%$ и $89 \pm 3\%$ соответственно; $p < 0,001$). Не обнаружено различий в риске развития рецидивов, тогда как летальность, связанная с терапией, выше у пациентов с СД-ОЛЛ ($19,3 \pm 3,5\%$ против $3,9 \pm 1,2\%$; $p < 0,001$), причем на всех этапах терапии. Результаты лечения пациентов с СД-ОЛЛ на сегодняшний день остаются неудовлетворительными, что диктует необходимость новых подходов к оптимизации терапии. Основной проблемой у этих пациентов остается высокая токсичность терапии и связанная с ней летальность. Дальнейший прогресс в лечении СД-ОЛЛ может быть связан с разработкой новых подходов к сопроводительной терапии, использованием таргетных препаратов и иммунотерапии, а также с изучением молекулярно-генетических особенностей этой подгруппы пациентов.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, дети, синдром Дауна, терапия, выживаемость, токсичность

Супрун Р.Н. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 14–26.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-14-26

Acute lymphoblastic leukemia in children with Down syndrome: “Moscow–Berlin” experience

R.N. Suprun¹, Yu.V. Roumiantseva^{2,3}, O.I. Bydanov^{2,4}, L.I. Zharikova^{2,3}, S.N. Lagoiko², V.V. Lebedev¹, K.L. Kondratchik^{3,5}, K.S. Aslanyan⁶, O.V. Aleynikova^{2,4}, L.G. Fechina⁷, G.V. Bykova⁸, N.I. Ponomareva³, N.V. Myakova², A.M. Popov², Yu.V. Olshanskaya², A.N. Kazakova², A.A. Maschan^{2,3}, G.A. Novichkova², A.I. Karachunskiy^{2,3}

¹Regional Children Clinical Hospital, Krasnodar

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

³Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow

⁴Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Republic of Belarus, Minsk region, Borovlyany

⁵Morozov Children City Clinical Hospital, Moscow

⁶Regional Children Clinical Hospital, Rostov-on-Don

⁷Regional Children Clinical Hospital, Yekaterinburg

⁸Regional Children Clinical Hospital, Stavropol

Down syndrome (DS) is one of the most common chromosomal abnormalities. Children with DS are more likely to develop acute lymphoblastic leukemia (ALL). Standard therapy is usually used to treat DS-ALL, but children with DS-ALL have an inferior outcome compared to non-DS patients, mainly due to increased therapy toxicity. The purpose of the study: in this study we aimed to analyze our experience of treating DS-ALL according to original protocol “Moscow–Berlin”. 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. The analysis included primary ALL patients, aged 1 to 18 years, who received therapy in Russian and Belarusian clinics participating in the “Moscow–Berlin” study from January 2008 to December 2020. To analyze the treatment results of DS-ALL patients, a comparison group was formed from all patients with ALL registered in the database, using the matched-pair method. A total of 8296 ALL patients were registered in the database, of which 135 (1.63%) were patients with DS-ALL. The predominant age group of DS-ALL patients is 3–10 years. Among them there was no T-cell ALL patient, and both favorable and unfavorable genetic abnormalities were significantly less common. There were no differences in early response between DS-ALL and non-DS-ALL patients. The event-free ($61 \pm 6\%$) and overall survival ($74 \pm 4\%$) of DS-ALL patients was significantly lower than in the comparison group ($84 \pm 3\%$ and $89 \pm 3\%$ respectively; $p < 0.001$). No differences were found in relapse rate, while the treatment-related mortality (TRM) was higher in DS-ALL group ($19.3 \pm 3.5\%$ versus $3.9 \pm 1.2\%$; $p < 0.001$) in all treatment phase. The treatment results for DS-ALL patients remain unsatisfactory; therefore, new approaches to optimizing therapy are needed. High toxicity and associated TRM are the main problem. Future strategies to improve outcome in DS-ALL should include improved supportive care, the use of targeted drugs and immunotherapy, as well as the identification of new molecular genetic features.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, children, Down syndrome, therapy, survival, toxicity

Suprun R.N., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 14–26.

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-14-26

Синдром Дауна (СД; Down Syndrome) является одним из наиболее распространенных хромосомных нарушений, встречающихся приблизительно у 1 из 800 новорожденных в Соединенных Штатах Америки ежегодно. Как известно, причиной и генетическим эквивалентом СД является трисомия хромосомы 21, и он характеризуется несколькими хорошо известными клиническими признаками, включающими сердечные дефекты, аномалии роста, эндокринопатии, офтальмологические нарушения и проблемы с обучаемостью [1–5]. Несмотря на то, что у детей с СД имеется более высокий риск развития злокачественных опухолей [6], заболеваемость солидными новообразованиями у пациентов с СД на самом деле значительно ниже, чем в популяции без СД, включая все возрастные группы [7, 8]. Однако существует значительно увеличенный риск заболевания острой лейкемией, причем как острой миелоидной (ОМЛ), так и острой лимфобластной (ОЛЛ) лейкемией, которые возникают главным образом у детей и подростков. Кроме того, дети с СД часто рождаются с транзиторным миелопротеративным нарушением, представляющим собой предлейкемическое состояние, характеризующееся чрезмерным преобладанием незрелых мегакариобластов. В отличие от острой мегакариоцитарной лейкемии (АМКЛ) у детей без СД, в лейкемических клетках АМКЛ у пациентов с СД часто коэкспрессируются мегакариоцитарные и

эритроидные маркеры [9], что, возможно, связано с наличием уникальных мутаций *GATA1* в этих клетках [10]. В отличие от АМКЛ у детей и взрослых без СД, СД-АМКЛ излечим с помощью стандартной химиотерапии с редуцированными дозами препаратов [11–13]. Эта увеличенная чувствительность к химиотерапии цитарабином, вероятно, связана с измененной активностью фермента цитидин дезаминазы, что является последствием мутаций *GATA1* [14].

Риск развития ОЛЛ у детей с СД увеличен в 22–37 раз по сравнению с таковым в общей популяции. Существуют некоторые характерные особенности ОЛЛ у детей с СД. Они включают преобладание европейцев [15], значительную редкость младенческого ОЛЛ [16, 17] и Т-клеточного иммунофенотипа [16–18]. Кроме того, благоприятная цитогенетика, такая как *ETV6-RUNX1*, двойная трисомия (трисомия 4 и 10) и высокая гипердиплоидия, а также неблагоприятная цитогенетика, такая как *BCR-ABL1* и перестройки *MLL*, менее распространены при СД-ОЛЛ, чем среди больных ОЛЛ без СД [16–19]. В недавнем международном исследовании Ponte di Legno, где были проанализированы ретроспективные данные из 16 клинических исследований, у большинства пациентов подгруппы СД (40,3%) был нормальный кариотип (конечно, кроме конституциональной трисомии 21), который контрастировал с низким уровнем такового среди детей с ОЛЛ без СД (6,9%) [17]. Для

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPhOI»

Received 15.01.2021

Accepted 02.02.2021

Correspondence:

Alexander I. Karachunskiy,
Dr. Med. Sci., Professor, Deputy Director
General, 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: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail:
alexandr.karachunski@fccho-moscow.ru

лечения СД-ОЛЛ обычно используется стандартная терапия, однако уникальные профили токсичности пациентов с СД приводят к серьезным проблемам. В недавних исследованиях группы COG: AALL0232 и AALL0932, включающих преднизолон или дексаметазон, винкристин, PEG-аспарагиназу и даунорубин, была показана повышенная летальность во время индукционной фазы лечения у пациентов с СД [20]. После добавления детальных рекомендаций по заместительной терапии и лейковорина для интра-текального метотрексата летальность уменьшилась при лечении по протоколу AALL0932, но не по протоколу AALL0232. Метаанализ, проведенный в исследовании Ponte di Legno, не обнаружил никаких различий в летальности между индукцией с 3 или 4 препаратами, показав тем самым, что нет никакого воздействия антрациклинов на связанную с лечением смертность у больных с СД [17]. Другое важное наблюдение в исследовании Ponte di Legno состоит в том, что связанная с лечением смертность у пациентов с СД была обнаружена во всех фазах лечения, включая поддерживающую терапию, редко ведущую к смерти у больных ОЛЛ без СД [17]. В целом результат терапии пациентов с СД-ОЛЛ хуже, чем таковой в общей популяции. Это различие связано с более высоким уровнем рецидивов [17], что может быть следствием редуцирования химиотерапии. Например, широко признано, что у пациентов с СД значительно повышен риск развития токсичности метотрексата, которая проявляется обычно в виде поражения желудочно-кишечного тракта [21]. Результатом этого обычно является отказ от применения метотрексата в высоких дозах или титрование последнего в большинстве протоколов [17].

Оригинальные российские протоколы терапии ОЛЛ у детей и подростков отличаются сниженной токсичностью в связи с отказом от высокодозных элементов лечения в виде высоких доз метотрексата, цитарабина и циклофосфамида, снижением кумулятивной дозы антрациклинов, длительной терапией аспарагиназой и увеличением количества люмбальных пункций. В настоящей работе представлен наш опыт лечения ОЛЛ у пациентов с СД, полученный в исследованиях ALL-MB 2008 и ALL-MB 2015.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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

Пациенты

С января 2008 г. по декабрь 2020 г. в исследованиях ALL-MB 2008 и ALL-MB 2015 было зарегистрировано 8296 первичных пациентов с ОЛЛ в

возрасте от 1 года до 18 лет, получавших лечение в клиниках России и Белоруссии, участвующих в исследовании. К категории первичных были отнесены пациенты, которым не назначали химиотерапию до начала специфического лечения, либо получившие лечение преднизолоном длительностью не более 10 дней, поскольку такая терапия могла быть приравнена к циторедуктивной предварительной фазе. Из включенных в анализ пациентов 3466 человек зарегистрированы в исследовании ALL-MB 2008 и 4830 – в исследовании ALL-MB 2015.

Диагностика и определение событий

Диагностика ОЛЛ проводилась во всех случаях общепринятыми методами путем цитологического и цитохимического исследований мазков костного мозга с морфологической оценкой согласно FAB-критериям. Диагноз ОЛЛ ставился при наличии более 25% лимфобластов в костном мозге.

Имунофенотипирование бластных клеток в костном мозге проводили на проточном цитометре согласно стандартным процедурам. Для иммунологической классификации ОЛЛ использовалась система Европейской группы по иммунологической характеристике лейкозов (European Group of Immunological Markers for Leukemias, EGIL) с учетом поздних внесенных изменений [22, 23]. До 2017 г. исследование проводилось в лабораториях центров-участников, имеющих необходимое оборудование. С 2017 г. стало обязательным проведение данного исследования в одной из референсных лабораторий (НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, Москва и ОДКБ №1, Екатеринбург – для клиник России; РНПЦ ДОГи, Минск – для клиник Белоруссии).

Диагноз инициальной нейрорлейкемии устанавливали при следующих показателях:

- наличие бластных клеток при цитологическом исследовании ликвора при цитозе $10/\text{мм}^3$ и более;
- наличие паралича черепно-мозговых нервов даже при отсутствии бластных клеток в ликворе и внутримозгового образования по данным компьютерной томографии;
- наличие опухолевых образований в головном мозге и его оболочке при помощи инструментальных методов обследования.

Ремиссию диагностировали при обнаружении в костномозговом пунктате не более 5% бластных клеток при полиморфной цитологической картине костного мозга, нормальном анализе крови и ликвора и отсутствии экстрамедуллярных проявлений лейкоза.

Изолированный костномозговой рецидив регистрировали при наличии, по крайней мере, 25% лимфобластов в костном мозге без признаков

экстрамедуллярной лейкоэмической инфильтрации. В случаях с доказанной экстрамедуллярной лейкоэмической инфильтрацией комбинированный костномозговой рецидив диагностировали при наличии более 5% лимфобластов в костном мозге. Изолированный экстрамедуллярный рецидив диагностировали при наличии клинических экстрамедуллярных проявлений лейкоэмии и отсутствии лейкоэмической инфильтрации (< 5% лимфобластов) в костном мозге. Диагноз нейрорецидива устанавливали при появлении признаков поражения центральной нервной системы (ЦНС) (критерии аналогичны критериям инициальной нейрорлейкемии) после констатации ремиссии.

Резистентность к терапии (non-responder) определялась как отсутствие ремиссии в костном мозге после первых 3 блоков высокодозной терапии согласно программе для группы высокого риска.

Смерть в индукции (ранняя смерть) регистрировалась у пациентов, погибших до окончания индукционной терапии или до момента констатации ремиссии.

Смерть в ремиссии констатировали при гибели детей от различных причин при отсутствии признаков лейкоза.

Вторая опухоль – развитие второго онкологического заболевания после окончания или на фоне химиотерапии по поводу ОЛЛ.

Пациента считали потерянным из-под наблюдения (lost of follow-up) при отсутствии информации о нем более 1 года.

Ранний ответ на терапию – наличие на 8-й день индукционной терапии в периферической крови менее 1000 бластных клеток в 1 мкл или менее 10% бластных клеток в костном мозге на 15-й день терапии.

Лечение

В период 2008–2014 гг. пациенты получали терапию согласно оригинальному отечественному протоколу ALL-MB 2008. Основные используемые препараты, дозы и режимы введения представлены в *таблице 1*. В качестве базового индукционного стероида использовался дексаметазон в дозе 6 мг/м²; в течение индукции проводилось рандомизированное исследование эффективности применения PEG-аспарагиназы в дозе 1000 мг/м² на 3-й день терапии. Во время консолидации пациенты в зависимости от группы риска участвовали в рандомизированном сравнении различных режимов терапии метотрексатом (30 мг/м² и 2000 мг/м²), аспарагиназой (нативная L-аспарагиназа в дозе 5000 Ед/м² и PEG-аспарагиназа в дозе 1000 мг/м²) и использования дополнительных интратекальных введений 3 препаратов вместо краниального облучения.

Критерии стратификации групп риска протокола ALL-MB 2008 представлены в *таблице 2*.

В период 2015–2020 гг. пациенты получали терапию согласно протоколу ALL-MB 2015. По сравнению с протоколом предыдущей генерации в него были внесены некоторые изменения: все пациенты получали PEG-аспарагиназу в дозе 1000 мг/м² на 3-и сутки лечения; высокие дозы метотрексата применялись только в блоках высокодозной терапии у пациентов группы высокого риска, в консолидации все больные получали метотрексат в дозе 30 мг/м²; краниальное облучение проводилось только отдельным подгруппам пациентов (больные с инициальной нейрорлейкемией, дети старше 3 лет с Ph⁺-ОЛЛ, ОЛЛ из В-клеток-предшественников (ВП-ОЛЛ) и инициальным лейкоцитозом $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$, пациенты с t(4;11); больные старше 10 лет терапевтической группы В). В зависимости от терапевтической группы и варианта лейкоэмии пациенты участвовали в различных рандомизированных исследованиях: использование прерывистого курса дексаметазона в индукции; применение различных стероидов (дексаметазон и метилпреднизолон) у пациентов старше 15 лет; использование бортезомиба у больных с ВП-ОЛЛ и инициальным лейкоцитозом более 100/мкл; применение 2-й фазы индукционной терапии у пациентов с Т-клеточным ОЛЛ. В остальном терапия не претерпела существенных изменений по сравнению с исследованием ALL-MB 2008.

В протоколе ALL-MB 2015 не было как таковой стратификации на группы риска, пациенты разделялись на несколько так называемых терапевтических групп. Поэтому для целей данного анализа при разделении пациентов на группы риска мы использовали критерии стратификации протокола ALL-MB 2008.

Статистический анализ

Для оценки результатов терапии группы пациентов с СД была сформирована контрольная группа сравнения из всех больных ОЛЛ, зарегистрированных в базе данных (БД). Для минимизации различий между группами был применен метод подбора пар (matched-pair). Процедура подбора соответствий (пар) осуществлялась путем перебора медицинских записей в БД и сопоставления с данными текущего случая пациента с СД. Для этого была написана специальная программа на языке R version 3.4.0 (2017-04-21), которая реализовывала алгоритм со следующими критериями подбора.

1. Принадлежность к одному исследованию (ALL-MB 2008 или ALL-MB 2015).
2. Совпадение по иммунофенотипу.
3. Совпадение по результатам генетического анализа.
4. Совпадение возраста (полных лет), если не удастся найти пару, то:

- для детей младше 10 лет – выбор наибольшего возможного возраста младше текущего;
 - для детей старше 10 лет – выбор наименьшего возможного возраста старше текущего.
5. Совпадение статуса ЦНС.

Таблица 1

Терапевтический протокол ALL-MB 2008

Table 1

Treatment protocol ALL-MB 2008

Препарат Medication	Доза и путь введения Dose and route	Дни Days
1	2	3
Индукция Induction		
Дексаметазон Dexamethasone	6 мг/м ² , р.о. 6 mg/m ² , PO	1–28
Винкристин Vincristine	1,5 мг/м ² , в/в 1.5 mg/m ² , IV	8, 15, 22, 29, 36
Даунорубин Daunorubicin	45 мг/м ² , в/в 45 mg/m ² , IV	8 ^a , 22 ^b
PEG-аспарагиназа PEG-asparaginase	1 000 Ед/м ² , в/в 1,000 U/m ² , IV	3 ^a
Консолидация I Consolidation I		
6-меркаптопурин Mercaptopurine	50 мг/м ² , р.о. 50 mg/m ² , PO	43–84
Метотрексат ^c Methotrexate ^c	30 мг/м ² , в/м 30 mg/m ² , IM	43, 50, 57, 64, 71, 78
	2 000 мг/м ² , в/в 2,000 mg/m ² , IV	43, 57, 71
L-аспарагиназа L-asparaginase	10 000 Ед/м ² , в/м ^a 10,000 U/m ² , IM ^a	44, 51, 58, 65, 72, 79
	5 000 Ед/м ² , в/м ^e 5,000 U/m ² , IM ^e	44, 51, 58, 65, 72, 79
PEG-аспарагиназа ^a PEG-asparaginase ^a	1 000 Ед/м ² , в/в 1,000 U/m ² , IV	44, 58, 72
Даунорубин ^a Daunorubicin ^a	30 мг/м ² , в/в 30 mg/m ² , IV	44, 58, 72
Дексаметазон Dexamethasone	6 мг/м ² , р.о. 6 mg/m ² , PO	85–95
Винкристин Vincristine	1,5 мг/м ² , в/в 1.5 mg/m ² , IV	85, 92
Консолидация II Consolidation II		
6-меркаптопурин Mercaptopurine	50 мг/м ² , р.о. 50 mg/m ² , PO	99–140
Метотрексат Methotrexate	30 мг/м ² , в/м 30 mg/m ² , IM	99, 106, 113, 120, 127, 134
L-аспарагиназа L-asparaginase	10 000 Ед/м ² , в/м ^a 10,000 U/m ² , IM ^a	100, 107, 114, 121, 128, 135
	5 000 Ед/м ² , в/м ^e 5,000 U/m ² , IM ^e	100, 107, 114, 121, 128, 135
PEG-аспарагиназа ^a PEG-asparaginase ^a	1 000 Ед/м ² , в/в 1,000 U/m ² , IV	100, 114, 128
Даунорубин ^a Daunorubicin ^a	30 мг/м ² , в/в 30 mg/m ² , IV	107, 128
Дексаметазон Dexamethasone	6 мг/м ² , р.о. 6 mg/m ² , PO	141–151
Винкристин Vincristine	1,5 мг/м ² , в/в 1.5 mg/m ² , IV	141, 148
Консолидация III Consolidation III		
6-меркаптопурин Mercaptopurine	50 мг/м ² , р.о. 50 mg/m ² , PO	155–196

Примечание. в/м – внутримышечно; в/в – внутривенно; р.о. – per os; ImRG – группа промежуточного риска; SRG – группа стандартного риска; HRG – группа высокого риска. ^a – исключены пациенты SRG, рандомизированные на ветвь PEG-DNR; ^b – в/в на 22-й день всем пациентам ImRG или больным SRG при наличии ≥ 10% бластных клеток в костном мозге на 15-й день; ^c – в зависимости от ветви рандомизации; ^d – 30 мг/м² у всех пациентов SRG и согласно ветви рандомизации для больных ImRG; ^e – для пациентов ImRG; ^f – у пациентов SRG в зависимости от ветви рандомизации; ^g – только для пациентов ImRG; ^h – дозировка в зависимости от возраста: < 1 года/1–2 года/2–3 года/≥ 3 лет; ⁱ метотрексат не вводится после лучевой терапии; ^j – только у пациентов ImRG в зависимости от ветви рандомизации; ^k – дозы для пациентов без/с инициальным поражением ЦНС; ^l – в зависимости от ветви рандомизации (у пациентов без инициального поражения ЦНС).

Notes. CNS – central nervous system; IM – intramuscular; IV – intravenous; PO – per os; ImG – intermediate risk group; SRG – standard risk-group; HRG – high risk group. ^a – excluded SRG patients randomized to arm PEG-DNR; ^b – given on day 22 to all ImRG-patients or to SRG-patients with ≥ 10% bone marrow blasts on day 15; ^c – according to randomization arm; ^d – 30 mg/m² for all SRG patients and methotrexate dose according to randomization arm for ImRG patients; ^e – for ImRG patients; ^f – for SRG patients according to randomization arm; ^g – only for ImRG; ^h – dosages given for ages < 1 years/1–2 years/2–3 years/≥ 3 years; ⁱ – methotrexate not given after CNS irradiation; ^j – only in ImRG patients according to randomization arm; ^k – dosage in patients without/with CNS-involvement at diagnosis; ^l – according to randomization arm (in patients without CNS involvement).

6. Совпадение группы риска.
7. Совпадение десятка инициального количества лейкоцитов (WBC), если не удастся найти пару, то:
- для WBC < 30 × 10⁹/л – наибольший возможный менее текущего;

1	2	3
Метотрексат Methotrexate	30 мг/м ² , в/м 30 mg/m ² , IM	155, 162, 169, 176, 183, 190
L-аспарагиназа L-asparaginase	10,000 Ед/м ² , в/м ^a 10,000 U/m ² , IM ^a	156, 163, 170, 177, 184, 191
	5,000 Ед/м ² , в/м ^e 5,000 U/m ² , IM ^e	156, 163, 170, 177, 184, 191
PEG-аспарагиназа ^a PEG-asparaginase ^a	1 000 Ед/м ² , в/в 1,000 U/m ² , IV	156, 170, 184
Дексаметазон Dexamethasone	6 мг/м ² , р.о. 6 mg/m ² , PO	197–207
Винкристин Vincristine	1,5 мг/м ² , в/в 1.5 mg/m ² , IV	197, 204
Инtrateкальная терапия ^a Intrathecal therapy ^a		
Метотрексат ^a Methotrexate ^a	6/8/10/12 мг 6/8/10/12 mg	1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 57, 71, 85, 99 ⁿ , 113 ⁿ , 127 ⁿ , 141, 155 ⁿ , 169 ⁿ , 183 ⁿ , 197, 211 ⁿ , 218 ⁿ , 253, 309, 365, 421
Цитарабин Cytarabine	SRG: 16/20/26/ 30 мг ImRG: 20/30/40/ 50 мг SRG: 16/20/26/30 mg ImRG: 20/30/40/50 mg	
Преднизолон Prednisone	4/6/8/10 мг 4/6/8/10 mg	
Краниальное облучение ^a CNS radiation therapy ^a		
SRG (любой возраст) SRG (any age)	–	
ImRGn/HRG: < 1 года ≥ 1 < 3 года ≥ 3 лет ImRGn/HRG: < 1 years ≥ 1 < 3 years ≥ 3 years	– 0/12 Гр 12/18 Гр – 0/12 Gy 12/18 Gy	
Поддерживающая терапия Maintenance therapy		
6-меркаптопурин (1 раз в сутки) Mercaptopurine (once daily)	50 мг/м ² , р.о. 50 mg/m ² , PO	Недели: 31–36, 39–44, 47–52, 55–60, 63–68, 71–76, 79–84, 87–92, 95–104 Weeks: 31–36, 39–44, 47–52, 55–60, 63–68, 71–76, 79–84, 87–92, 95–104
Метотрексат (1 раз в неделю) Methotrexate (once weekly)	30 мг/м ² , в/м 30 mg/m ² , IM	
Дексаметазон Dexamethasone	6 мг/м ² , р.о. 6 mg/m ² , PO	Недели: 37–38, 45–46, 53–54, 61–62, 69–70, 77–78, 85–86, 93–94 Weeks: 37–38, 45–46, 53–54, 61–62, 69–70, 77–78, 85–86, 93–94
Винкристин Vincristine	1,5 мг/м ² , в/в × 2 1.5 mg/m ² , IV × 2	

- для $WBC \geq 30 \times 10^9/\text{л}$ и $< 100 \times 10^9/\text{л}$ – любой ближайший из интервала $30\text{--}100 \times 10^9/\text{л}$;
- для $WBC \geq 100 \times 10^9/\text{л}$ – любой больше $100 \times 10^9/\text{л}$.

8. Размер селезенки:

- если текущий < 4 – любой < 4 ;
- если текущий ≥ 4 – любой ≥ 4 ;

9. Размер печени:

- если текущий < 4 – любой < 4 ;
- если текущий ≥ 4 – любой ≥ 4 .

Случай считался подобранным при выполнении всех 9 критериев. Если была возможность подобрать более 2 пар, предпочтение отдавалось первым 2 с наименьшими датами диагноза.

Результаты терапии ОЛЛ оценивали по числу пациентов, у которых была достигнута полная ремиссия (ПР), количеству ранних смертей, рецидивов, летальных исходов в ПР и числу больных, находящихся в продолжительной ПР (ППР), а также по показателям бессобытийной (event-free survival, EFS) и общей (overall survival, OS) выживаемости, рассчитанным по методу Каплана–Майера [24]. Для сравнения кривых выживаемости использовали непар-

аметрический log-rank-критерий [25]. Выживаемость рассчитывалась от даты диагностики ОЛЛ до даты наступления неблагоприятного события или даты последнего контакта с пациентом. При оценке EFS событиями считались: смерть в индукции, смерть в ремиссии, рецидив, вторая опухоль, рефрактерность к терапии (non-responder). У пациентов, не достигших ремиссии, датой наступления события считалась нулевая точка (дата диагноза). При оценке OS событием являлась смерть по любой причине.

Оценку кумулятивных рисков развития рецидивов (cumulative incidence of relapse, CIR) или смерти, обусловленной терапией (treatment related death – TRD), проводили согласно методике J. Kalbfleisch, R. Prentice [26, 27] с помощью специальной программы R. Для сравнения рисков использовали метод Грея.

При сравнении групп пациентов по категориальным признакам использовали критерий χ^2 или критерий Фишера.

Статистические вычисления были выполнены с помощью программ Prizma Graphpad версии 3.0 (GraphPad Software Inc, Сан-Диего, США), Statistica 6.0 (Statsoft Inc, Талса, США) и программы R, версия 3.4.0 (2017-04-21).

Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Таблица 2

Стратификация групп риска в исследовании ALL-MB 2008

Table 2

Risk group stratification in ALL-MB 2008

Группа риска Risk group	Критерии Criteria
SRG	Все критерии должны выполняться: Инициальное количество лейкоцитов $< 30 \times 10^9/\text{л}$ Размер селезенки < 4 см от края реберной дуги Нет поражения ЦНС Не-T-иммунофенотип Нет t(4;11) и/или t(9;22) Ремиссия достигнута к 36-му дню терапии All criteria must be complied: Initial WBC count $< 30 \times 10^9/\text{L}$ Spleen size < 4 cm No CNS involvement Non-T-immunophenotype No t(4;11) and/or t(9;22) Remission achieved at day 36
ImRG	Нет t(4;11) и/или t(9;22) и Ремиссия достигнута к 36-му дню терапии И, по крайней мере, 1 из следующих критериев: Инициальное количество лейкоцитов $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$ и $< 100 \times 10^9/\text{л}$ для ВП-ОЛЛ Размер селезенки ≥ 4 см от края реберной дуги Инициальное поражение ЦНС (ЦНС 3) T-клеточный ОЛЛ No t(4;11) and/or t(9;22) and Remission achieved at day 36 With at least one of following criteria: Initial WBC count $\geq 30 \times 10^9/\text{L}$ and $< 100 \times 10^9/\text{L}$ for BCP-ALL Spleen size ≥ 4 cm CNS involvement (CNS 3) T-cell ALL
HRG	t(4;11) и/или t(9;22) Инициальное количество лейкоцитов $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$ и ВП-ОЛЛ Нет ремиссии на 36-й день терапии t(4;11) and/or t(9;22) Initial WBC count $\geq 100 \times 10^9/\text{L}$ and BCP-ALL No remission at day 36

Notes. ALL – acute lymphoblastic leukemia; WBC – leukocytes; BCP-ALL – B-cell precursor ALL.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего в базе данных с января 2008 г. по декабрь 2020 г. было зарегистрировано 8296 первичных пациентов с ОЛЛ в возрасте от 1 года до 18 лет, получавших лечение в клиниках России и Белоруссии, участвовавших в исследованиях ALL-MB 2008 и ALL-MB 2015. Из них пациентов с СД оказалось 135 (1,63%).

Все пациенты с СД имели ВП-ОЛЛ. Поэтому для сравнения инициальных характеристик детей с СД и без него из всех пациентов в БД были выбраны только больные с ВП-ОЛЛ (без СД). Таких пациентов было 7198. Таким образом, больные с СД составили 1,85% всех пациентов с ВП-ОЛЛ.

Инициальные характеристики больных ОЛЛ с СД и без него представлены в таблице 3. Обнаружены различия в возрастном распределении – среди пациентов с СД чаще встречались дети в возрасте 3–10 лет и реже подростки (старше 10 лет). При этом различий по полу не отмечено. Среди пациентов с СД чаще встречались дети без инициальной спленомегалии (размеры селезенки менее 4 см). У них статистически значимо реже выявлялась транслокация (12;21) – 8,1% против 23,9% ($p < 0,001$). В частоте диагностирования инициального поражения ЦНС различий не отмечено. Распределение по группам

риска также оказалось одинаковым, несмотря на некоторые различия в инициальных характеристиках.

Оценка результатов терапии проводилась в группе пациентов с СД и в специально созданной группе сравнения. Инициальные характеристики пациентов в этих группах представлены в таблице 4. Из таблицы 4 видно, что различий в инициальных характеристиках между группами нет, т. е. группа сравнения подобрана качественно.

Не обнаружено различий в раннем ответе на терапию (8-й и 15-й дни лечения) между пациентами с СД и группой сравнения (таблица 4).

Результаты терапии представлены в таблице 5. Обращает на себя внимание, что в группе пациентов с СД летальность была статистически значимо выше, чем у больных группы сравнения. Смерть в индукции составила 10,4% и 1,9% соответственно ($p < 0,001$), смерть в ремиссии – 8,1% и 1,9% соответственно

($p < 0,001$). При этом различий в частоте развития рецидивов не отмечено.

Кривые выживаемости и CIR и TRD представлены на рисунке 1. EFS пациентов с СД составила $61 \pm 6\%$, что существенно ниже, чем в группе сравнения ($84 \pm 3\%$; $p < 0,001$). OS также была ниже и составила $74 \pm 4\%$ против $89 \pm 3\%$ ($p < 0,001$). В отношении CIR статистически значимых различий не получено, а вот риск TRD оказался существенно выше у пациентов с СД ($19,3 \pm 3,5\%$ против $3,9 \pm 1,2\%$; $p < 0,001$).

Мы провели сравнительный анализ результатов терапии в зависимости от группы риска. Результаты представлены в таблице 6 и на рисунках 2 и 3.

Летальность в индукции и в ремиссии была выше у пациентов с СД во всех группах риска, особенно выраженные различия отмечены в группе высокого риска. Частота развития рецидивов не отличалась у пациентов групп стандартного и высокого риска.

Таблица 3

Характеристика пациентов с ОЛЛ и СД и больных с ВП-ОЛЛ без СД

Table 3

Characteristics of ALL patients with Down syndrome and BCP-ALL patients without Down syndrome

Характеристика Characteristic	СД With Down syndrome		Без СД Without Down syndrome		p
	n	%	n	%	
Всего Total	135	100	7198	100	
Пол Gender					
Мальчики Boys	66	48,9	3880	53,9	0,284
Девочки Girls	69	51,1	3318	46,1	
Возраст, годы Age, years					
< 3	26	19,3	1817	25,2	0,018**
≥ 3 < 10	96	71,1	4264	59,3	
≥ 10	13	9,6	1117	15,5	
Инициальный лейкоцитоз, × 10 ⁹ /л WBC initial, × 10 ⁹ /L					
< 30	103	76,3	5472	76,0	0,848
≥ 30 < 100	25	18,5	1270	17,7	
≥ 100	7	5,2	455	6,3	
Размеры селезенки, см от края реберной дуги Spleen size, cm					
< 4	104	77,0	4991	69,4	0,068
≥ 4	31	23,0	2204	30,6	
Наличие поражения ЦНС Initial CNS involvement					
Да Yes	4	3,0	130	1,8	0,503
Нет No	131	97,0	7068	98,2	
Генетические перестройки* Genetics*					
t(9;22)	1	0,7	152	2,2	0,406
t(12;21)	11	8,1	1618	23,9	< 0,001
Группа риска Risk group					
SRG	72	53,3	3961	55,1	0,922
ImRG	52	38,5	2658	36,9	
HRG	11	8,2	577	8,0	

Примечание. * – генетические перестройки известны не у всех пациентов; ** – p для пациентов младше 3 лет – 0,137, для группы от 3 до 10 лет – < 0,001, старше 10 лет – 0,079

Notes. * – genetic rearrangements only for patients with available data; ** – for group < 3 years – p = 0.137, for group 3–10 years – p = < 0.001, for group ≥ 10 years – p = 0.079

Однако у пациентов с СД, отнесенных к группе промежуточного риска, частота развития рецидивов была статистически значимо выше, чем у больных группы сравнения (13,5% против 3,8%; $p = 0,027$).

EFS пациентов с СД в группе стандартного риска составила $67 \pm 8\%$, в группе промежуточного риска – $56 \pm 8\%$ и только $45 \pm 15\%$ – в группе высокого

риска. OS составила $82 \pm 5\%$, $71 \pm 7\%$ и $45 \pm 15\%$ соответственно. Различия в CIR найдены только для больных группы промежуточного риска: $21,9 \pm 7,7\%$ у пациентов с СД и $6,8 \pm 3,4\%$ – в группе сравнения ($p = 0,023$). Риск TRD был статистически значимо выше у пациентов с СД во всех группах риска (рисунк 3).

Таблица 4

Характеристика больных ОЛЛ с/без СД, включенных в анализ результатов терапии (подобранных методом подбора пар)

Table 4

Characteristics of ALL patients with Down syndrome and without Down syndrome included in treatment results analysis (by matched-pair method)

Характеристика Characteristic	СД With Down syndrome		Без СД Without Down syndrome		p
	n	%	n	%	
Всего Total	135	100	270	100	
Пол Gender					
Мальчики Boys	66	48,9	132	48,9	0,916
Девочки Girls	69	51,1	138	51,1	
Возраст, годы Age, years					
< 3	26	19,3	53	19,6	0,996
≥ 3 < 10	96	71,1	191	70,7	
≥ 10	13	9,6	26	9,6	
Инициальный лейкоцитоз, × 10 ⁹ /л WBC initial, × 10 ⁹ /L					
< 30	103	76,3	206	76,3	1,000
≥ 30 < 100	25	18,5	50	18,5	
≥ 100	7	5,2	14	5,2	
Размеры селезенки, см от края реберной дуги Spleen size, cm					
< 4	104	77,0	204	75,6	0,837
≥ 4	31	23,0	66	24,4	
Наличие поражения ЦНС Initial CNS involvement					
Да Yes	4	3,0	6	2,2	0,910
Нет No	131	97,0	264	97,8	
Генетические перестройки* Genetics*					
t(9;22)	1	0,7	2	0,7	0,539
t(12;21)	11	8,1	22	8,1	0,549
Ответ на 8-й день терапии, количество бластных клеток в 1 мкл периферической крови* 8 day response, blast cell count in μkl of peripheral blood*					
< 1000	118	99,2	245	96,1	0,189
≥ 1000	1	0,8	10	3,9	
Ответ на 15-й день терапии, % бластных клеток в костном мозге* 15 day response, blast cell in bone marrow, %*					
< 10	109	90,8	223	85,8	0,224
≥ 10	11	9,2	37	14,2	
Протокол терапии Treatment protocol					
ALL-MB 2008	44	32,6	88	32,6	0,910
ALL-MB 2015	91	67,4	182	67,4	
Группа риска Risk group					
SRG	72	53,3	144	53,3	1,000
ImRG	52	38,5	104	38,5	
HRG	11	8,2	22	8,1	

Примечание. * – генетические перестройки и ответ на 8-й и 15-й дни известны не у всех пациентов.

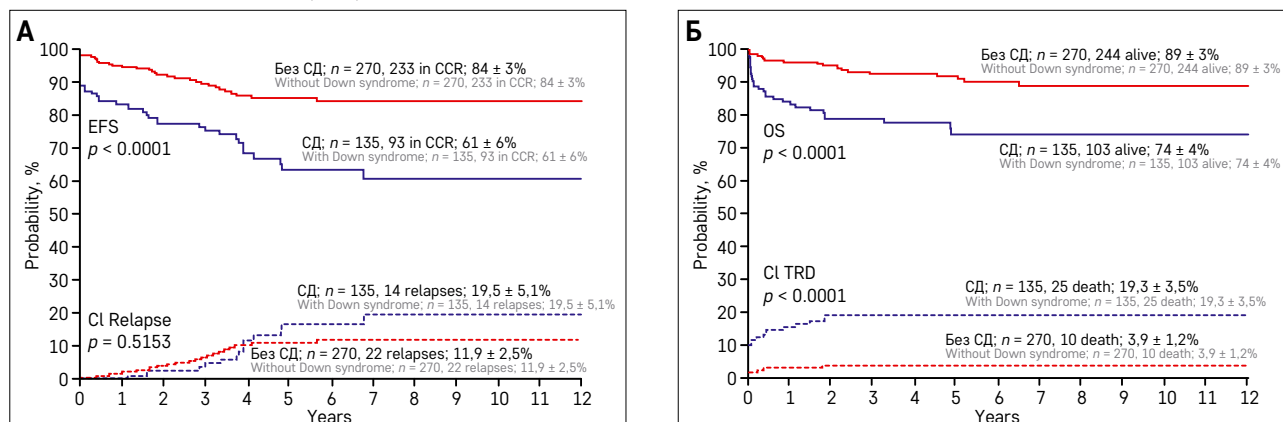
Notes. * – genetics, 8 and 15 day response only for patients with available data.

Рисунок 1

Результаты терапии больных ОЛЛ с/без СД, включенных в анализ результатов терапии (подобранных методом подбора пар): А – EFS и CIR; Б – OS и TRD

Figure 1

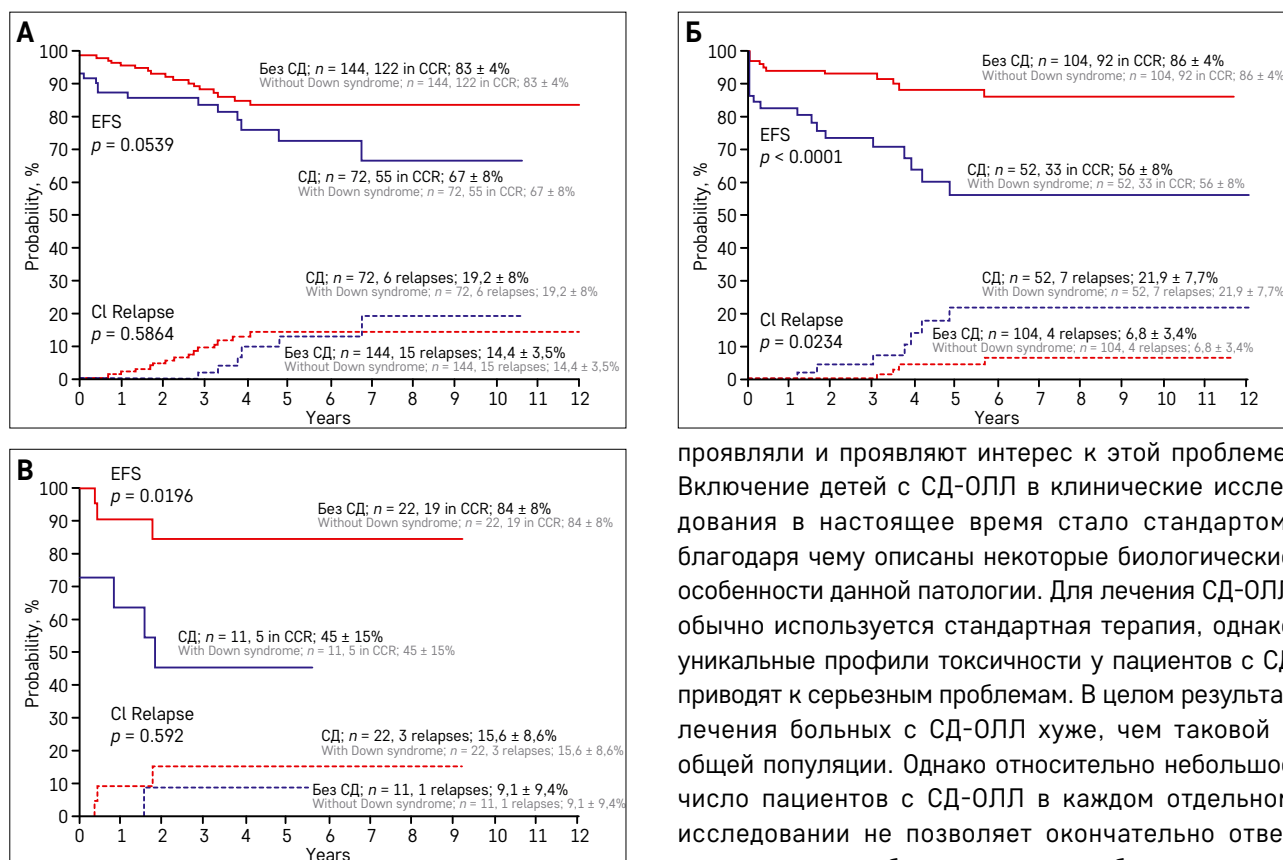
The treatment results of the ALL patients with and without Down syndrome included in the analysis of treatment results (by the matched-pair method): А – event-free survival (EFS) and cumulative incidence of relapse (CIR); Б – overall survival (OS) and treatment-related death (TRD)

**Рисунок 2**

EFS и CIR больных ОЛЛ с/без СД, включенных в анализ результатов терапии (подобранных методом подбора пар) в зависимости от группы риска: А – SRG; Б – ImRG; В – HRG

Figure 2

EFS and CIR in the ALL patients with and without Down syndrome included in the analysis of treatment results (by the matched-pair method) according to risk group: А – SRG; Б – ImRG; В – HRG



ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Взаимосвязь между СД и ОЛЛ известна уже в течение почти столетия, и все крупные международные группы, занимающиеся изучением биологических свойств и оптимизацией терапии детей с ОЛЛ,

проявляли и проявляют интерес к этой проблеме. Включение детей с СД-ОЛЛ в клинические исследования в настоящее время стало стандартом, благодаря чему описаны некоторые биологические особенности данной патологии. Для лечения СД-ОЛЛ обычно используется стандартная терапия, однако уникальные профили токсичности у пациентов с СД приводят к серьезным проблемам. В целом результат лечения больных с СД-ОЛЛ хуже, чем таковой в общей популяции. Однако относительно небольшое число пациентов с СД-ОЛЛ в каждом отдельном исследовании не позволяет окончательно ответить на вопрос о биологических особенностях этой подгруппы больных, причинах «неудач» терапии и выработать единые стандарты лечения.

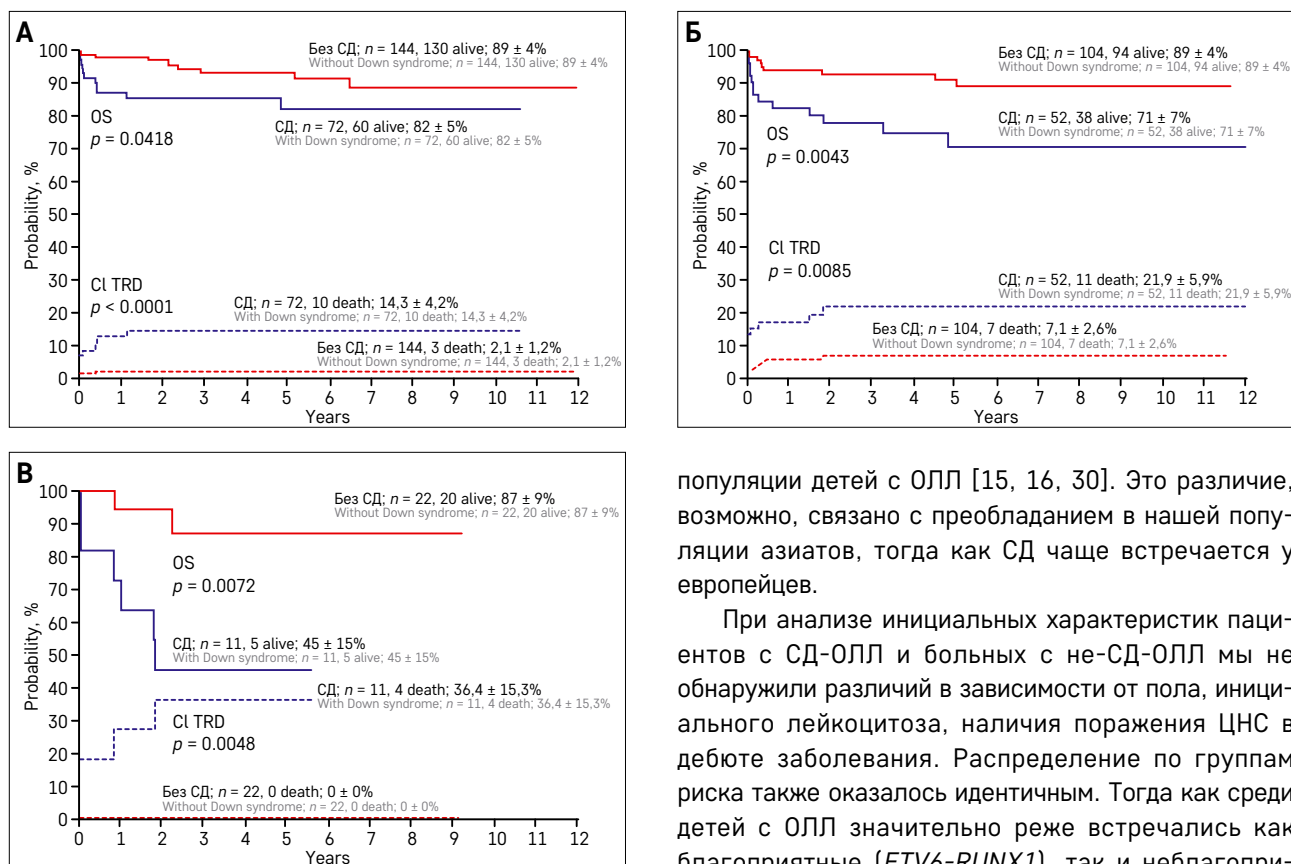
В данной работе мы проанализировали инициальные характеристики, ответ на терапию и ее результаты у 135 пациентов с СД-ОЛЛ, зарегистрированных в БД исследовательской группы «Москва–Берлин» за 13 лет. Наша выборка примерно

Рисунок 3

OS и TRD больных ОЛЛ с/без СД, включенных в анализ результатов терапии (подобранных методом подбора пар) в зависимости от группы риска: А – SRG; Б – ImRG; В – HRG

Figure 3

OS and TRD in the ALL patients with and without Down syndrome included in the analysis of treatment results (by the matched-pair method) according to risk group: А – SRG; Б – ImRG; В – HRG



соответствует, а в некоторых случаях даже превосходит опубликованные данные основными международными группами за последние годы [15, 16, 28–30].

По нашим данным, частота СД-ОЛЛ составила 1,63%, что несколько меньше, чем в других исследованиях. В основном описывают частоту 2–3% среди

популяции детей с ОЛЛ [15, 16, 30]. Это различие, возможно, связано с преобладанием в нашей популяции азиатов, тогда как СД чаще встречается у европейцев.

При анализе инициальных характеристик пациентов с СД-ОЛЛ и больных с не-СД-ОЛЛ мы не обнаружили различий в зависимости от пола, инициального лейкоцитоза, наличия поражения ЦНС в дебюте заболевания. Распределение по группам риска также оказалось идентичным. Тогда как среди детей с ОЛЛ значительно реже встречались как благоприятные (*ETV6-RUNX1*), так и неблагоприятные (*BCR-ABL1*) генетические аномалии. Ни одного человека с Т-клеточным иммунофенотипом не было среди наших пациентов. Эти данные полностью соответствуют опубликованным данным других международных групп. Так, только в исследовании группы AIEOP 1 пациент имел Т-линейный иммунофенотип

Таблица 5

Результаты терапии больных ОЛЛ с/без СД, включенных в анализ результатов терапии (подобранных методом подбора пар)

Table 5

Treatment results of ALL patients with Down syndrome and without Down syndrome included in treatment results analysis (by matched-pair method)

Характеристика Characteristic	Синдром Дауна With Down syndrome		Без синдрома Дауна Without Down syndrome		p
	n	%	n	%	
Всего Total	135	100	270	100	
Смерть в индукции Early death	14	10,4	5	1,9	< 0,001
Non-responder	1	0,7	0	0,0	0,157
Достигли ПР CR achieved	120	88,9	265	98,1	< 0,001
Смерть в ремиссии Remission death	11	8,1	5	1,9	0,002
Рецидивы Relapses	14	10,4	22	8,1	0,459
LFU	2	1,5	5	1,9	0,788
Находятся в ППР CCR	93	68,9	233	86,3	< 0,001

Примечание. LFU – потеря из-под наблюдения.

Notes. CR – complete remission; CCR – continuous complete remission; LFU – Lost-to-follow-up.

[31], тогда как в остальных у всех пациентов с СД был ВП-ОЛЛ [16–18]. Крайне редкая встречаемость различных генетических аномалий у пациентов с СД-ОЛЛ также отмечена практически всеми исследователями [16–19]; среди описанных когорт пациентов с СД-ОЛЛ чаще всего встречались больные без каких-либо генетических аномалий [17].

Относительно преобладающей возрастной группы среди пациентов с СД-ОЛЛ существуют некоторые различия. Так, в исследовании группы BFM чаще встречались пациенты более старшего возраста [28], тогда как в исследовании UKALL преобладали дети в возрасте 2–9 лет [29], а группа NOPHO вообще не описывает различий в распределении по возрасту между пациентами с СД-ОЛЛ и не-СД-ОЛЛ [16]. Единственное, в чем сходятся все исследователи, это то, что СД-ОЛЛ практически не встречается у детей младше 1 года [16, 17]. В нашем исследовании среди пациентов с СД-ОЛЛ преобладали дети в возрасте от 3 до 10 лет (71,1%); больные младше 3 лет составили 19,3%, при этом среди них не было младенцев, а пациенты старше 10 лет – 9,6%.

Анализ результатов терапии пациентов с СД-ОЛЛ проведен нами в сравнении с группой, специально подобранной с помощью анализа подбора пар (matching-pair-анализ), что выгодно отличает его от основных опубликованных данных, так как в нашем случае группа сравнения полностью соответствует группе СД-ОЛЛ по всему набору инициальных характеристик. Подобный анализ проведен только группой BFM [28].

EFS пациентов с СД-ОЛЛ в нашем исследовании составила $61 \pm 6\%$ против $84 \pm 3\%$ при не-СД-ОЛЛ ($p < -0,001$), OS – $74 \pm 4\%$ против $89 \pm 3\%$ соответственно ($p < -0,001$). Различия в выживаемости были обусловлены резким увеличением летальности на всех этапах терапии у пациентов с СД-ОЛЛ (риск TRD составил $19,3 \pm 3,5\%$ и $3,9 \pm 1,2\%$ соответственно; $p < -0,001$) без достоверного увеличения CIR.

Подобные результаты были получены нами во всех группах риска, за исключением увеличения CIR у пациентов СД-ОЛЛ группы промежуточного риска (рисунки 2). Особенно высокая летальность отмечена среди пациентов группы высокого риска с СД-ОЛЛ (таблица 6).

Плохие результаты терапии ОЛЛ у пациентов с СД отмечены всеми исследовательскими группами. Основной причиной этого является высокая токсичность лечения и связанная с ним летальность на всех этапах, включая поддерживающую терапию, которая, как правило, не является проблемой у пациентов с не-СД-ОЛЛ [17]. Именно наблюдаемая высокая токсичность привела к практике редуцирования химиотерапии у таких больных. Возможно, именно с такой редукцией связано увеличение частоты развития рецидивов у пациентов с СД-ОЛЛ, отмеченное некоторыми исследова-

телями [17]. Интересным является тот факт, что рецидивы у пациентов с СД-ОЛЛ, как правило, поздние [17].

Важной особенностью оригинального отечественного протокола «Москва–Берлин» является полный отказ от интенсивной химиотерапии и краниального облучения для большинства пациентов, отсутствие использования высоких доз метотрексата и циклофосфана, значительная редукция кумулятивной дозы антрациклинов. Однако, несмотря на это, результаты у пациентов с СД-ОЛЛ также оказались неутешительными. Редукция химиотерапии не привела к снижению летальности, которая явилась основной проблемой у пациентов с СД-ОЛЛ. Высокая токсичность терапии у больных с СД-ОЛЛ, отмеченная всеми исследователями, свидетельствует о том, что дальнейшая интенсификация лечения у этих пациентов невозможна. С другой стороны, тот факт, что мы не получили различий в частоте развития рецидивов, предполагает эффективность даже низкоинтенсивной терапии у таких пациентов. И дальнейшая оптимизация лечения должна быть связана с поиском путей снижения летальности.

Одной из особенностей нашего протокола наряду с редукцией химиотерапии является интенсивное использование интратекальных введений химиопрепаратов, в том числе метотрексата. В то же время широко признано, что у пациентов с СД значительно повышен риск развития метотрексатовой токсичности [21], что связано с низким клиренсом данного препарата [6, 28] и, вероятно, является результатом эндогенно истощенных запасов фолатов, вызванным чрезмерным синтезом пуринов [32–34]. Также было предположено, что число копий генов восстановленного фолатного носителя на хромосоме 21 определяет количество полиглутаматов метотрексата в лейкозных лимфобластах [35]. Таким образом, общая чувствительность к метотрексату пациентов с СД-ОЛЛ, связанная с определенными особенностями метаболизма, может вносить вклад в увеличение токсичности и летальности. И возможно, что введение в практику обязательного использования лейковорина у таких пациентов при проведении интратекальной терапии может способствовать оптимизации лечения больных с СД-ОЛЛ за счет уменьшения токсичности и связанной с ней летальности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пациенты с СД-ОЛЛ представляют собой отдельную подгруппу больных ОЛЛ, имеющую свои биологические особенности. Необходимы дальнейшие исследования по изучению молекулярно-генетических и других особенностей этой группы пациентов, и вполне вероятно, что она является достаточно гетерогенной с точки зрения биологии лейкемии. Результаты лечения пациентов с СД-ОЛЛ

Таблица 6

Результаты терапии больных ОЛЛ с/без СД, включенных в анализ результатов терапии (подобранных методом подбора пар) в различных группах риска

Table 6

Treatment results of ALL patients with Down syndrome and without Down syndrome included in treatment results analysis (by matched-pair method) depending on risk groups

Характеристика Characteristic	СД With Down syndrome		Без СД Without Down syndrome		p
	n	%	n	%	
SRG					
Всего Total	72	100	144	100	
Смерть в индукции Early death	5	6,9	2	1,4	0,029
Non-responder	0	0,0	0	0,0	–
Достигли ПР CR achieved	67	93,1	142	98,6	0,029
Смерть в ремиссии Remission death	5	6,9	1	0,7	0,008
Рецидивы Relapses	6	8,3	15	10,4	0,626
LFU	1	1,4	4	2,8	0,522
Находятся в ППР CCR	55	76,4	122	84,7	0,133
ImRG					
Всего Total	52	100	104	100	
Смерть в индукции Early death	7	13,5	3	2,9	0,011
Non-responder	0	0,0	0	0,0	–
Достигли ПР CR achieved	45	86,5	101	97,1	0,011
Смерть в ремиссии Remission death	4	7,7	4	3,8	0,305
Рецидивы Relapses	7	13,5	4	3,8	0,027
LFU	1	1,9	1	1,0	0,615
Находятся в ППР CCR	33	63,5	92	88,5	< 0,001
HRG					
Всего Total	11	100	22	100	
Смерть в индукции Early death	2	18,2	0	0,0	0,039
Non-responder	1	9,1	0	0,0	0,151
Достигли ПР CR achieved	8	72,7	22	100,0	0,010
Смерть в ремиссии Remission death	2	18,2	0	0,0	0,039
Рецидивы Relapses	1	9,1	3	13,6	0,706
LFU	0	0,0	0	0,0	–
Находятся в ППР CCR	5	45,5	19	86,4	0,013

на сегодняшний день остаются неудовлетворительными, что диктует необходимость новых подходов к оптимизации терапии. Основной проблемой у этих пациентов остается высокая токсичность лечения и связанная с ним летальность даже на этапе поддерживающей терапии. Необходимы новые подходы к сопроводительной терапии с учетом имеющихся данных об особенностях фармакокинетики и метаболизма лекарственных препаратов у этих пациентов. Также необходимы новые исследования по использованию современных таргетных препаратов и иммунотерапии, которые, не обладая высокой токсичностью, в то же время показали свою эффективность в лечении ОЛЛ.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Roumiantseva Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9670-3728>
 Zharikova L.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1105-8676>
 Lagoiko S.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3793-104x>
 Aleynikova O.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0143-1921>
 Myakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>
 Popov A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0889-6986>
 Olshanskaya Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2352-7716>
 Maschan A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0016-6698>
 Novichkova G.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>
 Karachunskiy A.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9300-5198>

Литература

- Seewald L., Taub J.W., Maloney K.W., McCabe E.R.B. Acute leukemias in children with Down syndrome. *Mol Genet Metab* 2012; 107 (1–2): 25–30. DOI: 10.1016/j.ymgme.2012.07.011. PMID: 22867885
- Ross J.A., Spector L.G., Robison L.L., Olshan A.F. Epidemiology of leukemia in children with Down syndrome. *Pediatr Blood Cancer* 2005; 44 (1): 8–12. DOI: 10.1002/pbc.20165. PMID: 15390275
- Vis J.C., Duffels M.G., Winter M.M., Weijerman M.E., Cobben J.M., Huisman S.A., et al. Down syndrome: a cardiovascular perspective. *J Intellect Disabil Res* 2009; 53 (5): 419–25. DOI: 10.1111/j.1365-2788.2009.01158.x. PMID: 19228275
- Watt T., Robertson K., Jacobs R.J. Refractive error, binocular vision and accommodation of children with Down syndrome. *Clin Exp Optom* 2015; 98 (1): 3–11. DOI: 10.1111/cxo.12232. PMID: 25395109
- Ferreira-Vasques A.T., Lamônica D.A.C. Motor, linguistic, personal and social aspects of children with Down syndrome. *J Appl Oral Sci* 2015; 23 (4): 424–30. DOI: 10.1590/1678-775720150102. PMID: 26398516
- Lange B. The management of neoplastic disorders of haematopoiesis in children with Down's syndrome. *Br J Haematol* 2000; 110 (3): 512–24. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2000.02027.x. PMID: 10997960
- Hasle H., Clemmensen I.H., Mikkelsen M. Risks of leukaemia and solid tumours in individuals with Down's syndrome. *Lancet* 2000; 355 (9199): 165–9. DOI: 10.1016/S0140-6736(99)05264-2. PMID 10675114
- Yang Q., Rasmussen S.A., Friedman J.M. Mortality associated with Down's syndrome in the USA from 1983 to 1997: a population-based study. *Lancet* 2002; 359 (9311): 1019–25. DOI: 10.1016/s0140-6736(02)08092-3. PMID: 11937181
- Langebrake C., Creutzig U., Reinhardt D. Immunophenotype of Down syndrome acute myeloid leukemia and transient myeloproliferative disease differs significantly from other diseases with morphologically identical or similar blasts. *Klin Padiatr* 2005; 217 (3): 126–34. DOI: 10.1055/s-2005-836510. PMID: 15858703
- Wechsler J., Greene M., McDevitt M.A., Anastasi J., Karp J.E., Le Beau M.M., et al. Acquired mutations in GATA1 in the megakaryoblastic leukemia of Down syndrome. *Nat Genet* 2002; 32 (1): 148–52. DOI: 10.1038/ng955. PMID: 12172547
- Caldwell J.T., Ge Y., Taub J.W. Prognosis and management of acute myeloid leukemia in patients with Down syndrome. *Expert Rev Hematol* 2014; 7 (6): 831–40. DOI: 10.1586/17474086.2014.959923. PMID: 25231553
- Creutzig U., van den Heuvel-Eibrink M.M., Gibson B., Dworzak M.N., Adachi S., de Bont E., et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: recommendations from an international expert panel. *Blood* 2012; 120 (16): 3187–205. DOI: 10.1182/blood-2012-03-362608. PMID: 22879540
- Taga T., Watanabe T., Tomizawa D., Kudo K., Terui K., Moritake H., et al. Preserved High Probability of Overall Survival with Significant Reduction of Chemotherapy for Myeloid Leukemia in Down Syndrome: A Nationwide Prospective Study in Japan. *Pediatr Blood Cancer* 2016; 63 (2): 248–54. DOI: 10.1002/pbc.25789. PMID: 26481183
- Ge Y., Stout M.L., Tatman D.A., Jensen T.L., Buck S., Thomas R.L., et al. GATA1, cytidine deaminase, and the high cure rate of Down syndrome children with acute megakaryocytic leukemia. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97 (3): 226–31. DOI: 10.1093/jnci/dji026. PMID: 15687366
- Maloney K.W., Carroll W.L., Carroll A.J., Devidas M., Borowitz M.J., Martin P.L., et al. Down syndrome childhood acute lymphoblastic leukemia has a unique spectrum of sentinel cytogenetic lesions that influences treatment outcome: a report from the Children's Oncology Group. *Blood* 2010; 116 (7): 1045–50. DOI: 10.1182/blood-2009-07-235291. PMID: 20442364
- Zeller B., Gustafsson G., Forestier E., Abrahamsson J., Clausen N., Heldrup J., et al. Acute leukaemia in children with Down syndrome: a population-based Nordic study. *Br J Haematol* 2005; 128 (6): 797–804. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2005.05398.x. PMID: 15755283
- Buitenkamp T.D., Izraeli S., Zimmermann M., Forestier E., Heerema N.A., van den Heuvel-Eibrink M.M., et al. Acute lymphoblastic leukemia in children with Down syndrome: a retrospective analysis from the Ponte di Legno study group. *Blood* 2014; 123 (1): 70–7. DOI: 10.1182/blood-2013-06-509463. PMID: 24222333
- Arico M., Ziino O., Valsecchi M.G., Cazzaniga G., Baronci C., Messina C., et al. Acute lymphoblastic leukemia and Down syndrome: presenting features and treatment outcome in the experience of the Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology (AIEOP). *Cancer* 2008; 113 (3): 515–21. DOI: 10.1002/cncr.23587. PMID: 18521927
- Zwaan C.M., Kaspers G.J., Pieters R., Hahlen K., Janka-Schaub G.E., van Zantwijk C.H., et al. Different drug sensitivity profiles of acute myeloid and lymphoblastic leukemia and normal peripheral blood mononuclear cells in children with and without Down syndrome. *Blood* 2002; 99 (1): 245–51. DOI: 10.1002/cncr.23587. PMID: 11756178
- Maloney K.W., Wood B., Whitlock J.A., Loh M., Raetz E.A., Winick N., et al. Event free (EFS) and overall survival (OS) for children with Down syndrome (DS) and B-lymphoblastic leukemia in Children's Oncology Group (COG) trials AALL0232 and AALL0331. *Pediatric Blood Cancer* 2014; 61 (S1): S4, abstract #4009.
- Buitenkamp T.D., Mathot R.A., de Haas V., Pieters R., Zwaan C.M. Methotrexate-induced side effects are not due to differences in pharmacokinetics in children with Down syndrome and acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2010; 95 (7): 1106–13. DOI: 10.3324/haematol.2009.019778. PMID: 20418240
- Bene M., Castoldi G., Knapp W., Ludwig W.D., Matutes E., Orfao A., et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. *European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). Leukemia* 1995; 9 (10): 1783–6. PMID: 7564526
- Новикова И.А., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Л.В., Цаур Г.А., Белевцев М.Б., Попов А.М. Стандарт российско-белорусской кооперативной группы по иммунофенотипированию острого лимфобластного лейкоза у детей. *Онкогематология* 2018; 13 (1): 73–82. DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-1-73-82
- Kaplan E.L., Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958; 53: 457–81.
- Mantel N. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. *Cancer Chemother Rep* 1966; 50 (3): 163–70. PMID: 5910392
- Kalbfleisch J., Prentice R. *The Statistical Analysis of Failure Time Data*. Wiley, New York; 2002.
- Cortese G., Andersen P.K. Competing risks and time-dependent covariates. *Biom J* 2010; 52 (1): 138–58. DOI: 10.1002/bimj.200900076. PMID: 20029852
- Dordelmann M., Schrappe M., Reiter A., Zimmermann M., Graf N., Schott G., et al. Down's syndrome in childhood acute lymphoblastic leukemia: clinical characteristics and treatment outcome in four consecutive BFM trials. Berlin–Frankfurt–Münster Group. *Leukemia* 1998; 12 (5): 645–51. DOI: 10.1038/sj.leu.2400989. PMID: 9593260
- Chessells J.M., Harrison G., Richards S.M., Bailey C.C., Hill F.G., Gibson B.E., et al. Down's syndrome and acute lymphoblastic leukaemia: clinical features and response to treatment. *Arch Dis Child* 2001; 85 (4): 321–5. DOI: 10.1136/adc.85.4.321. PMID: 11567943
- Whitlock J.A., Sather H.N., Gaynon P., Robison L.L., Wells R.J., Trigg M., et al. Clinical characteristics and outcome of children with Down syndrome and acute lymphoblastic leukemia: a Children's Cancer Group study. *Blood* 2005; 106 (13): 4043–9. DOI: 10.1182/blood-2003-10-3446. PMID: 16109782
- Conter V., Arico M., Valsecchi M.G., Basso G., Biondi A., Madon E., et al. Long-term results of the Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology (AIEOP) acute lymphoblastic leukemia studies, 1982–1995. *Leukemia* 2000; 14 (12): 2196–204. DOI: 10.1038/sj.leu.2401963. PMID: 11187911
- Lejeune J., Rethore M.O., de Blois M.C., Maunoury-Burola C., Mir M., Nicolle L., et al. Metabolism of monocarbonyls and trisomy 21: sensitivity to methotrexate. *Ann Genet* 1986; 29 (1): 16–9. PMID: 2940958
- Garre M.L., Relling M.V., Kalwinsky D., Dodge R., Crom W.R., Abramowitch M., et al. Pharmacokinetics and toxicity of methotrexate in children with Down syndrome and acute lymphocytic leukemia. *J Pediatr* 1987; 111 (4): 606–12. DOI: 10.1016/s0022-3476(87)80131-2. PMID: 2958611
- Ueland P.M., Refsum H., Christensen B. Methotrexate sensitivity in Down's syndrome: a hypothesis. *Cancer Chemother Pharmacol* 1990; 25 (5): 384–6. DOI: 10.1007/BF00686245. PMID: 2137726
- Belkov V.M., Krynetski E.Y., Scheutz J.D., Yanishevski Y., Masson E., Matthew S., et al. Reduced folate carrier expression in acute lymphoblastic leukemia: a mechanism for ploidy but not lineage differences in methotrexate accumulation. *Blood* 1999; 93 (5): 1643–50. PMID: 10029593

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-27-39

Прогностическая роль различных перестроек 11q23/KMT2A у детей первого года жизни с острым лимфобластным лейкозом

Г.А. Цаур¹⁻³, Т.О. Ригер^{1,2}, А.М. Попов⁴, А.М. Кустанович⁵, Ю.В. Ольшанская⁴, Т.В. Наседкина^{4,6}, А.Г. Солодовников^{2,3}, Е.В. Шориков⁷, А.С. Демина^{1,2}, О.М. Плеханова¹, Е.С. Нохрина¹, Т.Ю. Вержбицкая^{1,2}, О.В. Стренева^{1,2}, О.В. Макарова¹, О.Р. Аракаев^{1,2}, Л.И. Савельев¹⁻³, О.В. Алейникова^{4,8}, Е.С. Лапотентова⁸, Н.В. Мякова⁴, В.В. Фоминых⁴, К.Л. Кондратчик⁹, Е.Г. Бойченко¹⁰, Н.И. Пономарева¹¹, А.И. Карачунский⁴, А.Г. Румянцев⁴, Л.Г.Фечина^{1,2}

¹ГАЗ СО «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург

²ГАЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург

³ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

⁵Институт онкологии Шаретт, Медицинский Центр Хадасса, Израиль, Иерусалим

⁶ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук», Москва

⁷ООО «ПЭТ-Технолоджи», Екатеринбург

⁸ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Республика Беларусь, Минск

⁹ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

¹⁰СПб ГБУЗ «Детская городская больница №1», Санкт-Петербург

¹¹Российская детская клиническая больница ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Целью данной работы была оценка прогностической роли перестроек 11q23/KMT2A у детей первого года жизни с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) из В-линейных предшественников, включенных в российско-белорусское мультицентровое исследование MLL-Baby. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ГАЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий» (Екатеринбург). Перестройки 11q23/KMT2A выявлены у 100 (72%) из 139 пациентов, включенных в исследование. Бессобытийная выживаемость (БСВ) в группе промежуточного риска протокола MLL-Baby составила 35,1% (стандартная ошибка (СО) 6,9%), в группе высокого риска – 38,3% (СО 7,1%) ($p = 0,941$). Наименее прогностически благоприятным оказалось наличие транслокации t(9;11)/KMT2A-MLLT3: БСВ составила 18,8% (СО 9,8%), кумулятивная частота развития рецидива (КЧР) – 75,0% (СО 9,7%). Промежуточные результаты были выявлены у пациентов с транслокациями t(4;11)/KMT2A-AFF1 и t(11;19)/KMT2A-MLLT1: БСВ – 36,9% (СО 7,2%) и 32,7% (СО 10,4%) соответственно; КЧР – 46,3% (СО 7,8%) и 50,9% (СО 12,3%) соответственно. А наилучшие показатели зафиксированы у пациентов с транслокацией t(10;11)(p12;q23)/KMT2A-MLLT10: БСВ – 83,3% (СО 15,2%), КЧР – 0,0%. В многофакторном анализе показателями, связанными с неблагоприятным исходом KMT2A-позитивного ОЛЛ в исследованной группе пациентов, были инициальный нейрорлейкоз ($p = 0,020$), инициальный гиперлейкоцитоз выше $300 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,028$), более 5% бластов в костном мозге на 15-й день терапии ($p = 0,012$), наличие транслокации t(11;19)/KMT2A-MLLT1 ($p = 0,012$).

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, прогноз, дети первого года жизни, перестройки 11q23/KMT2A

Цаур Г.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 27–39.

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-27-39

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 25.01.2021

Принята к печати 02.02.2021

Контактная информация:

Цаур Григорий Анатольевич, д-р мед. наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии, иммунофенотипирования и патоморфологии ГАЗ СО «Областная детская клиническая больница», ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной терапии онкогематологических заболеваний ГАЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», доцент кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России
Адрес: 620149, Екатеринбург, ул. С. Дерябиной, 32
E-mail: tsaur@mail.ru

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPhOI»

Received 25.01.2021

Accepted 02.02.2021

Prognostic significance of various 11q23/*KMT2A* rearrangements in infants with acute lymphoblastic leukemia

G.A. Tsaur¹⁻³, T.O. Riger^{1,2}, A.M. Popov⁴, A.M. Kustanovich⁵, Yu.V. Olshanskaya⁴, T.V. Nasedkina^{4,6}, A.G. Solodovnikov^{2,3}, E.V. Shorikov⁷, A.S. Demina^{1,2}, O.M. Plekhanova¹, E.S. Nokhrina¹, T.Yu. Verzhbitskaya^{1,2}, O.V. Streneva^{1,2}, O.V. Makarova¹, O.R. Arakae^{1,2}, L.I. Seveliev¹⁻³, O.V. Aleinikova^{4,8}, E.S. Lapotentova⁷, N.V. Myakova⁴, V.V. Fominykh⁴, K.L. Kondratchik⁹, E.G. Boichenko¹⁰, N.I. Ponomareva¹¹, A.I. Karachunskiy⁴, A.G. Roumiantsev⁴, L.G. Fechina^{1,2}

¹Regional Children's Hospital, Ekaterinburg²Research Institute of Medical Cell Technologies, Ekaterinburg³Ural State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ekaterinburg⁴Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow⁵The Sharet Institute of Oncology, Hadassah Medical Center, Israel, Jerusalem⁶Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow⁷PET-Technology Center of Nuclear Medicine, Ekaterinburg⁸Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Republic of Belarus, Minsk⁹Morozov Children's City Clinical Hospital of the Moscow City Healthcare Department, Moscow¹⁰City Children's Hospital №1, Saint-Petersburg¹¹Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Correspondence:

Grigory A. Tsaur, Dr. Med. Sci., Head of the Laboratory of Molecular Biology, Immunophenotyping and Pathomorphology at the Regional Children's Hospital, Ekaterinburg, a leading researcher at the Laboratory of Cellular Therapy for Oncohematological Diseases, the Research Institute of Medical Cell Technologies, Associate Professor at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics and Bacteriology, Ural State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 32 S. Deryabinov St., Ekaterinburg 620149, Russia
E-mail: tsaur@mail.ru

The purpose of this work was evaluation of prognostic significance of 11q23/*KMT2A* rearrangements in infants (aged under 365 days) with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (ALL) enrolled in Russian-Belarus multicenter trial MLL-Baby. This study is supported by the Independent Ethics Committee and approved by the Academic Council of the Research Institute of Medical Cell Technologies (Ekaterinburg). Various 11q23/*KMT2A* rearrangements were revealed in 100 (72%) of 139 patients. Event-free survival (EFS) in the intermediate risk group of MLL-Baby trial was 35.1% (standard error (SE) 6.9%), in the high risk group – 38.3% (SE 7.1%) ($p = 0.941$). The most unfavorable prognosis had infants with translocation t(9;11)/*KMT2A-MLLT3*: EFS 18.8% (SE 9.8%), cumulative incidence of relapse (CIR) 75.0% (SE 9.7%). Intermediate results were obtained in patients with translocations t(4;11)/*KMT2A-AFF1* and t(11;19)/*KMT2A-MLLT1*: EFS 36.9% (SE 7.2%) and 32.7% (SE 10.4%), respectively; CIR 46.3% (SE 7.8%) and 50.9% (SE 12.3%). The most favorable treatment outcome was achieved in infants carrying translocation t(10;11)(p12;q23)/*KMT2A-MLLT10*: EFS 83.3% (SE 15.2%), CIR 0.0%. In the multivariate analysis unfavorable outcome of *KMT2A*-rearranged infant ALL was associated with initial CNS involvement ($p = 0.020$), initial white blood cell count higher than $300 \times 10^9/L$ ($p = 0.028$), more than 5% blast cells on day 15 in bone marrow ($p = 0.012$) and presence of translocation t(11;19)/*KMT2A-MLLT1* ($p = 0.012$).

Key words: acute lymphoblastic leukemia, prognosis, infants, 11q23/*KMT2A* rearrangements

Tsaur G.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 27–39.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-27-39

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) у детей первого года жизни характеризуется высокой частотой встречаемости перестроек гена *KMT2A* (ранее известного как *MLL*), достигающей 75% случаев [1, 2]. При ОЛЛ у детей первого года жизни наиболее частой перестройкой 11q23/*KMT2A* является транслокация t(4;11)/*KMT2A-AFF1*, на долю которой приходится около половины *KMT2A*-позитивных случаев. На втором месте по частоте находится транслокация t(11;19)/*MLL-MLLT1* – около 20%, немного реже выявляется t(9;11)/*MLL-MLLT3* – 15–16% [3–6]. Суммарно на долю 5 наиболее частых генов-партнеров *KMT2A* (*AFF1*, *MLLT1*, *MLLT3*, *MLLT10*, *EPS15*) приходится более 90% всех случаев *KMT2A*-позитивных ОЛЛ у детей первого года жизни [6]. В настоящее время Комитетом по номенклатуре генов HUGO (HUGO gene nomenclature committee, HGNC) утверждены новые названия как для гена *KMT2A* (*MLL*), так и для его генов-партнеров [7]. Мы в дальнейшем будем пользоваться современной терминологией, но для удобства в таблице 1 приведены современные и традиционные названия генов-партнеров, а также соответствующие им транслокации.

Практически все исследовательские группы сходятся на том, что наличие любых перестроек 11q23/*KMT2A* значительно ухудшает прогноз ОЛЛ у детей первого года жизни [2, 4, 5, 8, 9]. В то же время

существовало мнение о неравнозначной прогностической роли различных аномалий 11q23/*KMT2A* при ОЛЛ у детей исследуемой возрастной категории. Традиционно считалось, что наиболее неблагоприятной является транслокация t(4;11)/*KMT2A-AFF1*, в то время как прогноз для пациентов с транслокациями t(11;19)/*MLL-MLLT1*, t(9;11)/*MLL-MLLT3* и другими (более редкими) перестройками 11q23/*KMT2A* несколько лучше [3]. Однако на сегодняшний

Таблица 1

Соответствие химерных генов и химерных транскриптов различным транслокациям

Table 1

Correspondence of fusion genes and fusion gene transcripts to various translocations

Химерный ген/транскрипт Fusion gene/Fusion gene transcript		Транслокация Translocation
Современное название (HGNC) Current name (HGNC)	Традиционное название Traditional name	
<i>KMT2A-AFF1</i>	<i>MLL-AF4</i>	t(4;11)(q21;q23)
<i>KMT2A-MLLT1</i>	<i>MLL-ENL</i>	t(11;19)(q23;p13.3)
<i>KMT2A-MLLT3</i>	<i>MLL-AF9</i>	t(9;11)(p22;q23)
<i>KMT2A-MLLT6</i>	<i>MLL-AF17</i>	t(11;17)(q23;q21)
<i>KMT2A-MLLT10</i>	<i>MLL-AF10</i>	t(10;11)(p12;q23)
<i>KMT2A-MLLT11</i>	<i>MLL-AF1q</i>	t(1;11)(q21;q23)
<i>KMT2A-EPS15</i>	<i>MLL-AF1p</i>	t(1;11)(p32;q23)
<i>KMT2A-AFDN</i>	<i>MLL-AF6</i>	t(6;11)(q27;q23)
<i>KMT2A-AFF3</i>	<i>MLL-LAF4</i>	t(2;11)(q12;q23)
<i>KMT2A-ELL</i>	<i>MLL-ELL</i>	t(11;19)(q23;p13.1)
<i>KMT2A-FOXO4</i>	<i>MLL-AFX</i>	t(X;11)(q13;q23)

день столь однозначного мнения нет. Группа Interfant в рамках крупнейшего из опубликованных на сегодняшний день исследований по лечению ОЛЛ у детей первого года жизни Interfant-06 показала, что наименее благоприятный прогноз имели пациенты с транслокациями $t(4;11)/KMT2A-AFF1$ и $t(11;19)/MLL-MLLT1$, а наилучший прогноз был зафиксирован при наличии других перестроек $11q23/KMT2A$ [1]. Сходные результаты были получены при лечении по протоколу CCG-1953 в США: наилучший прогноз зафиксирован у пациентов с другими перестройками $11q23/KMT2A$, а пациенты с 3 наиболее частыми перестройками $11q23/KMT2A$ имели схожие и более низкие показатели бессобытийной выживаемости (БСВ) [8]. В то же время в рамках протокола MLL-10 в Японии было показано, что наилучшие результаты лечения были у пациентов с транслокацией $t(9;11)/MLL-MLLT3$, в то время как прогноз больных из 3 других групп (с транслокациями $t(4;11)/KMT2A-AFF1$, $t(11;19)/MLL-MLLT1$ и другими перестройками $11q23/KMT2A$) был ниже и не различался [10]. Результаты терапии $KMT2A$ -позитивного ОЛЛ у детей первого года жизни разными исследовательскими группами представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты терапии ОЛЛ у детей первого года жизни с перестройками $11q23/KMT2A$

Table 2

Treatment outcome of infants with $11q23/KMT2A$ -rearranged acute lymphoblastic leukemia

Исследовательская группа Research group	Протокол лечения Treatment protocol	Годы исследования Years of study	Число пациентов Number of patients	Время оценки, годы Evaluation time, years	Количество рецидивов*, n (%) Number of relapses*, n %	БСВ (СО), % EFS (SE), %	Источник Source
Japan pediatric leukemia study group	MLL-10	2011–2015	75	5		66,2 (5,6)	[10]
Children's Oncology Group	AALL0631	2008–2017	Н.д. (N.d.)	3		37,0 (Н.д.) 37,0 (N.d.)	[11]
	P9407	2001–2006	100	5		35,5 (6,4)	[2]
Japan infant leukemia study group	MLL96+MLL98	1995–2001	60	5		38,6 (10,9)	[4]
Interfant	Interfant-06	2006–2016	484	6		36,4 (2,3)	[1]
	Interfant-99	1999–2005	314	4		36,9 (3,1)	[5]
Associazione Italiana di Ematologia e Oncologia Pediatrica	AIEOP ALL-91/ ALL-95	1991–2000	$t(4;11)$ – 12	3	8 (67)		[12]
United Kingdom Medical Research Council	Infant 92	1992–1999	$t(4;11)$ – 31 Другие $11q23$ – 23 $t(4;11)$ – 31 Other $11q23$ – 23	4		$t(4;11)$ – 30,5 (Н.д.) Другие $11q23$ – 26,0 (Н.д.) $t(4;11)$ – 30,5 (N.d.) Other $11q23$ – 26,0 (N.d.)	[13]
Children's Cancer Group	CCG-1953	1996–2000	79	5		33,6 (Н.д.) 33,6 (N.d.)	[8]
	CCG-107 + CCG-1883	1984–1993	$t(4;11)$ – 33	4		$t(4;11)$ – 3,0 (Н.д.) $t(4;11)$ – 3,0 (N.d.)	[14]
Berlin–Frankfurt–Munster	ALL-BFM 83/86/90	1983–1995	29	6		28,0 (8,0)	[15]
Dana-Farber Cancer Institute	DFCI 85-01/87- 01/91-01	1985–1995	7	4	4 (57)		[16]
Pediatric Oncology Group	POG 8493	1984–1990	27	4	20 (74)	–	[17]
European Organization for Research and Treatment of Cancer – Children Leukemia Cooperative Group	EORTC-CLCG 58831, 58832	1982–1989	6	4		0,0	[18]

Примечание. * – абсолютное число (n) и доля (%) рецидивов приведены только для тех исследований, в которых не были представлены данные о БСВ. Н.д. – данные отсутствуют.

Note. * – absolute number (n) and percentage (%) of relapses showed for studies without event-free survival (EFS) data. N.d. – no data.

В нашей стране в 2003 г. был разработан собственный оригинальный протокол лечения детей первого года жизни MLL-Baby [19, 20], который с 2006 г. стал применяться в мультицентровом формате в 25 клиниках Российской Федерации (РФ) и Республики Беларусь (РБ).

Целью данной работы была оценка прогностической роли различных перестроек $11q23/KMT2A$ у детей с ОЛЛ первого года жизни, получавших лечение по протоколу MLL-Baby.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий» (Екатеринбург). В исследование MLL-Baby было включено 139 детей первого года жизни с верифицированным диагнозом ОЛЛ из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ), получавших лечение в клиниках РФ и РБ в период с сентября 2003 г. по апрель 2016 г. Из этого числа у 100 (72%) пациентов были выявлены различные перестройки $11q23/KMT2A$. Данные этих 100 человек

представлены в настоящей работе. Согласно критериям стратификации протокола MLL-Baby пациенты с наличием транслокации $t(4;11)(q21;q23)/KMT2A-AFF1$ получали терапию высокого риска, в то время как больные с любыми другими перестройками $11q23/KMT2A$, достигшие к 36-му дню гематологической ремиссии, были отнесены к группе промежуточного риска [19, 20]. Схема протокола MLL-Baby приведена на *рисунке 1*. Среди пациентов было 36 мальчиков и 64 девочки. Инициальные характеристики больных, включенных в исследование, вместе с данными ответа на индукционную терапию приведены в *таблице 3*.

Диагноз ОЛЛ устанавливали на основании стандартных морфологических критериев [21] и данных иммунофенотипирования [22–24]. При проведении цитогенетического исследования применяли краткосрочное культивирование клеток в течение 24 ч. Дифференциальную окраску хромосом на G-полосы проводили красителем Гимза после предварительной обработки препаратов трипсином. В большинстве случаев анализировали не менее 20 метафазных пластинок. Анализ хромосом выполняли в соответствии с Международной номенклатурой хромосом человека, принятой на момент выполнения стандартного цитогенетического исследования [25–27]. Выявление перестроек $11q23/KMT2A$ проводили в образцах костного мозга методами гнездовой полимеразной цепной реакции (ПЦР) с предшествующей обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) и флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) с зондами LSI MLL dual color break apart rearrangement probe (Abbott Molecular, США) и XL MLL plus (MetaSystems, Германия) по ранее описанным протоколам [28–31]. В качестве контроля

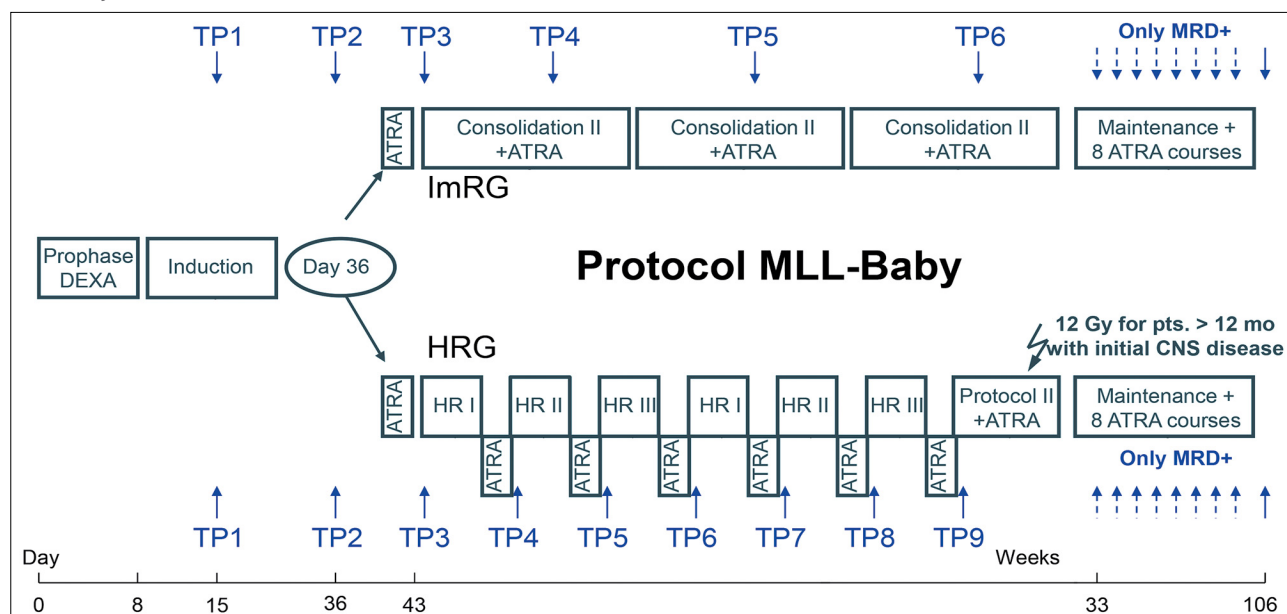
выделения РНК оценивали экспрессию гена *ABL* в ходе одностадийной ОТ-ПЦР. В отдельных случаях, при расхождении результатов ОТ-ПЦР и FISH, дополнительно была использована длинная инвертированная ПЦР (long-distance inverse PCR, LDI-PCR) [32]. Для исключения образцов низкого качества из анализа перед проведением ОТ-ПЦР проводили оценку качества РНК с использованием микроструйных чипов RNA 6000 Nano LabChip (Caliper Technologies, США) на биоанализаторе Agilent 2100 (Agilent, США) согласно инструкции производителя. В дальнейшую работу брали образцы, в которых показатель целостности РНК (RNA integrity number) превышал 4,2 [33].

Мы также оценили применимость деления на группы риска, предложенные группой Interfant и использованные в протоколе Interfant-06. Пациенты с перестройками $11q23/KMT2A$ могли быть отнесены либо к группе высокого риска (сочетание перестройки $11q23/KMT2A$ с возрастом младше 6 месяцев на момент диагностики и инициальным лейкоцитозом $300 \times 10^9/\text{л}$ и выше либо абсолютным числом бластов в периферической крови 1000 и более на 8-й день стероидной профазы), либо к группе промежуточного риска (все остальные *KMT2A*-позитивные случаи) [1].

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение XLSTAT-2016 (Addinsoft, Франция), R-statistical 4.0.2 (R Foundation for Statistical Computing, Австрия). При сравнении 2 групп пациентов по количественным признакам использовали критерий Манна–Уитни. Результаты терапии оценивались по кривым БСВ, построенным по методу Каплана–Майера, а также по кумулятивной частоте развития рецидива (КЧР). Для сравнения кривых использовались непараметрические

Рисунок 1
Схема протокола MLL-Baby

Figure 1
MLL-Baby treatment scheme



log-rank-критерий и критерий Грея соответственно. Стандартную ошибку (СО) рассчитывали по формуле Гринвуда. Расчет отношения опасности (ОО) с 95% доверительным интервалом (ДИ) был проведен по методу Кокса в однофакторной и многофакторной моделях. Все различия считались достоверными при $p < 0,05$. Информированное согласие на проведение диагностических и лечебных мероприятий было получено во всех случаях.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты терапии детей первого года жизни с KMT2A-позитивным ОЛЛ по протоколу MLL-Baby достоверно не различались у пациентов промежуточной и высокой групп риска. БСВ в группе проме-

Таблица 3

Характеристики 100 пациентов с перестройками 11q23/KMT2A, включенных в анализ

Table 3

Characteristics of 100 patients with 11q23/KMT2A rearrangements included in the current study

Показатель Parameter	Абсолютное число Absolute number	Доля, % Percentage, %
1	2	3
Пол Gender		
Мужской Male	36	36
Женский Female	64	64
Возраст Age		
Младше 6 месяцев Less 6 months	62	62
6 месяцев и старше 6 month and older	38	38
Младше 3 месяцев Less 3 months	26	26
3–6 месяцев 3–6 months	36	36
6–9 месяцев 6–9 months	23	23
9–12 месяцев 9–12 months	15	15
Инициальный лейкоцитоз Initial white blood cell count		
Менее $100 \times 10^9/\text{л}$ Less $100 \times 10^9/\text{L}$	51	51
$100 \times 10^9/\text{л}$ и выше $100 \times 10^9/\text{L}$ and higher	49	49
Менее $300 \times 10^9/\text{л}$ Less $300 \times 10^9/\text{L}$	74	74
$300 \times 10^9/\text{л}$ и выше $300 \times 10^9/\text{L}$ and higher	26	26
Тип перестройки 11q23/KMT2A Type of 11q23/KMT2A rearrangement		
t(4;11)(q21;q23)/KMT2A-AFF1	49	49
t(11;19)(q23;p13.3)/KMT2A-MLLT1	21	21
t(9;11)(p21;q23)/KMT2A-MLLT3	16	16
t(10;11)(p12;q23)/KMT2A-MLLT10	6	6
t(1;11)(p32;q23)/KMT2A-EPS15	4	4
t(2;11)(q12;q23)/KMT2A-AFF3	1	1
Неизвестная перестройка 11q23/ KMT2A Unknown 11q23/KMT2A rearrangement	3	3

Примечание. * – 1 пациент с транслокацией t(2;11)(q11;q23)/KMT2A-AFF3 получал лечение по ветви высокого риска согласно решению протокольного комитета.

Note. * – based on decision of MLL-Baby study committee 1 patient with translocation t(2;11)(q11;q23)/KMT2A-AFF3 was relocated to the high-risk group.

жуточного риска составила 35,1% (СО 6,9%) (далее везде в скобках будет указываться СО без использования данного сокращения), в группе высокого риска – 38,3% (7,1%) ($p = 0,941$) (рисунок 2А). КЧР в группе промежуточного риска была 55,6% (7,4%), а в группе высокого риска – 45,2% (7,7%) ($p = 0,395$) (рисунок 2Б).

БСВ девочек и мальчиков достоверно не различались 41,7% (6,5%) и 26,8% (7,5%) соответственно ($p = 0,254$). Однако частота рецидивов у девочек была статистически значимо ниже – 42,4% (7,0%) и 64,7% (8,2%) соответственно ($p = 0,032$) (рисунок 3).

Отдельно проведена оценка влияния возраста, в котором был диагностирован KMT2A-позитивный ОЛЛ, на результаты терапии по протоколу MLL-Baby. Для этого все пациенты были разделены на

1	2	3
Иммунофенотип Immunophenotype		
B I (pro-B)	71	71
B II (common)	15	15
B III (pre-B)	12	12
Другой Other	2	2
Инициальный нейролейкоз Initial CNS involvement		
Нет No	56	56
Да Yes	44	44
Абсолютное количество бластных клеток на 8-й день терапии в периферической крови Absolute blast count on day 8 in peripheral blood		
Менее 1000 Less 1000	82	82
1000 и более 1000 and more	18	18
Статус костного мозга на 15-й день индукционной терапии Bone marrow status on day 15 of induction remission		
M1 M1	72	72
M2–M3 M2–M3	28	28
Достижение клинико-гематологической ремиссии на 36-й день индукционной терапии Complete remission achievement on day 36 of induction remission		
Да Yes	97	97
Нет No	3	3
Группа риска по протоколу MLL-Baby MLL-Baby risk group		
Группа промежуточного риска Intermediate risk group	50	50
Группа высокого риска High risk group	50*	50*
Группа риска по протоколу Interfant-06 Interfant-06 risk group		
Группа промежуточного риска Intermediate risk group	78	78
Группа высокого риска High risk group	22	22

2 возрастные группы: младше и старше 6 месяцев. БСВ в группе пациентов, у которых ОЛЛ был диагностирован в возрасте младше 6 месяцев ($n = 62$), была ниже – 31,2% (6,0%), а КЧР выше – 54,9% (6,8%) по сравнению с пациентами старше 6 месяцев ($n = 38$): БСВ 45,5% (8,4%), КЧР 43,3% (8,7%), однако полученные различия не были статистически значимыми ($p = 0,132$ и $p = 0,245$ соответственно). При этом необходимо подчеркнуть, что полученные различия

в первую очередь связаны с разницей в исходах лечения между пациентами, у которых ОЛЛ диагностирован в возрасте 9–12 месяцев ($n = 15$): БСВ 52,5% (13,1%), КЧР 28,4% (14,0%) по сравнению с возрастом 0–3 месяца ($n = 26$): БСВ – 23,1% (8,3%), КЧР – 55,0% (10,3%), так как различий между группами 3–6 месяцев ($n = 36$) и 6–9 месяцев ($n = 23$) практически не было: БСВ – 37,8% (8,3%) и 42,5% (10,5%) соответственно, а КЧР – 54,1% (8,6%) и

Рисунок 2

Результаты лечения пациентов первого года жизни с *KMT2A*-позитивным ОЛЛ по протоколу MLL-Baby в зависимости от группы: А – БСВ; Б – КЧР

Здесь и далее на всех рисунках значения возле кривых показывают величину БСВ или КЧР, а также СО, которая приведена в скобках

Figure 2

Treatment outcome in infants with *KMT2A*-rearranged ALL based on MLL-Baby stratification: A – EFS; Б – cumulative incidence of relapse (CIR)

Here and in further figures values near curves showed EFS or CIR with standard error in brackets

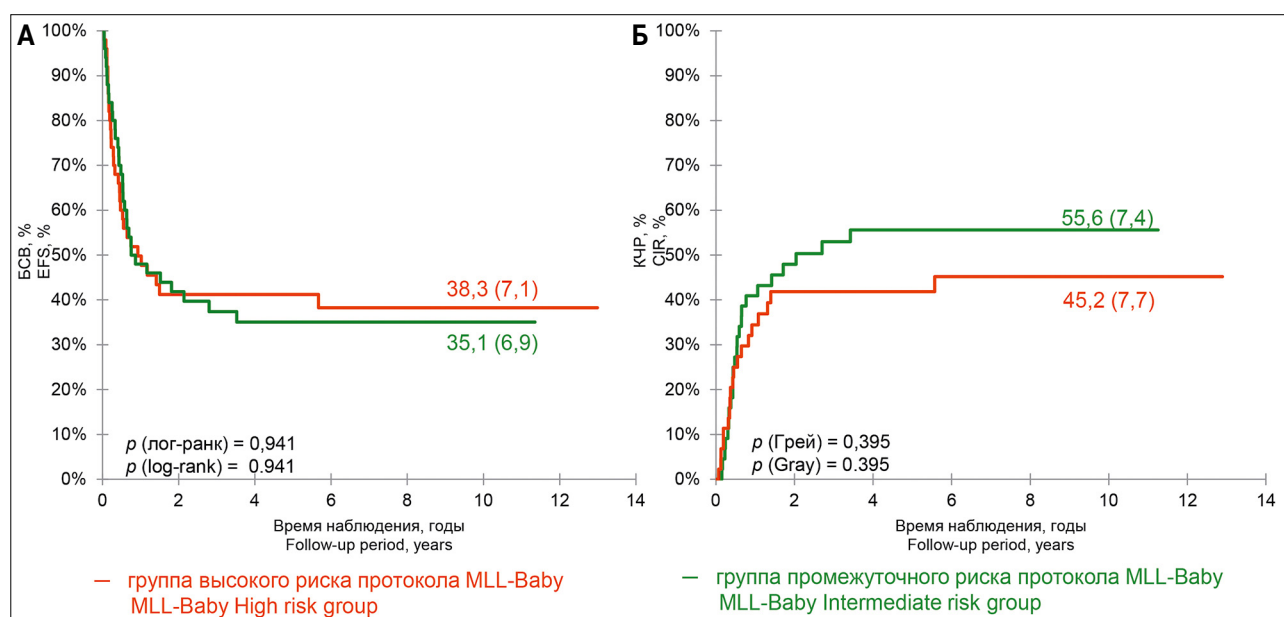
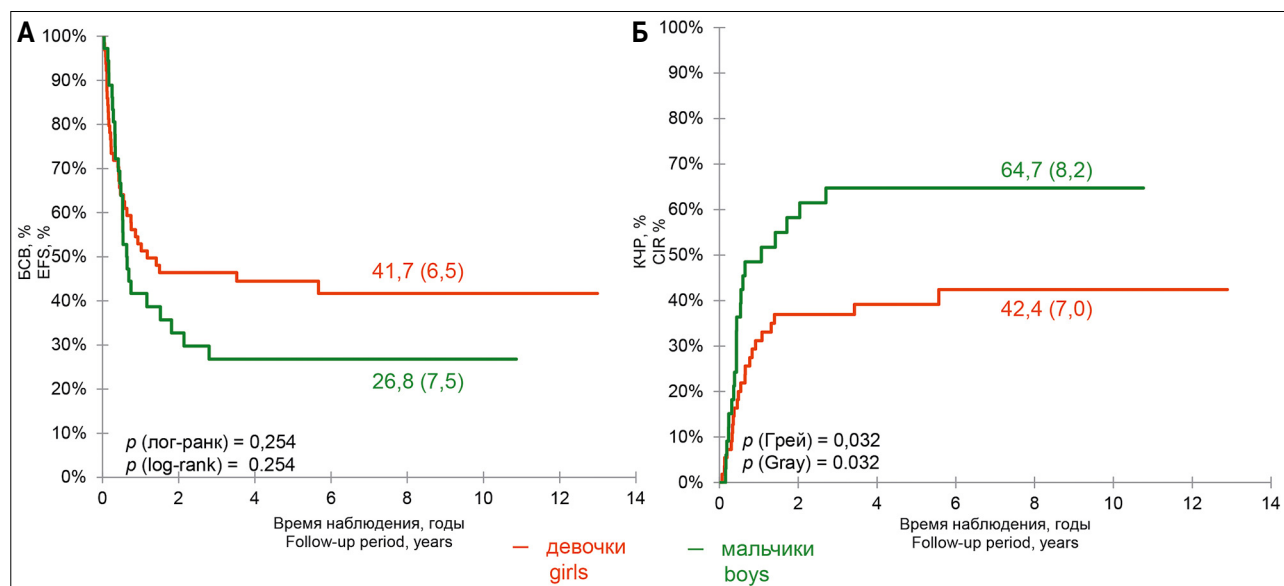


Рисунок 3

Результаты лечения пациентов первого года жизни с *KMT2A*-позитивным ОЛЛ по протоколу MLL-Baby у мальчиков и девочек: А – БСВ; Б – КЧР

Figure 3

Treatment outcome in infants with *KMT2A*-rearranged ALL depending on gender: A – EFS; Б – CIR



48,8% (10,2%) соответственно (рисунок 4). Также нами были исследованы результаты терапии в группе пациентов, у которых ОЛЛ был выявлен на первом месяце жизни. БСВ у них составила 20,0% (17,9%), а КЧР – 80,0% (18,0%). Однако из-за малой численности данной подгруппы ($n = 5$) различия с группой пациентов старше 1 месяца ($n = 95$) не достигали статистической достоверности: БСВ – 37,4% (5,1%) ($p = 0,891$), КЧР – 48,7% (5,6%) ($p = 0,306$).

Для более детального рассмотрения прогностической роли наиболее частых перестроек 11q23/*KMT2A* пациенты были разделены на 4 группы: с транслокацией t(4;11)/*KMT2A-AFF1*, с транслокацией t(9;11)/*KMT2A-MLLT3*, с транслокацией t(11;19)/*MLL-MLLT1*, а также с другими перестройками 11q23/*KMT2A*. Результаты этого сравнительного анализа приведены на рисунке 5. Наилучшие показатели БСВ и КЧР имели пациенты из группы с другими пере-

Рисунок 4

Результаты лечения пациентов первого года жизни с *KMT2A*-позитивным ОЛЛ по протоколу MLL-Baby в зависимости от возраста установления диагноза: А – БСВ; Б – КЧР

Figure 4

Treatment outcome in infants with *KMT2A*-rearranged ALL depending on age of diagnosis: А – EFS; Б – CIR

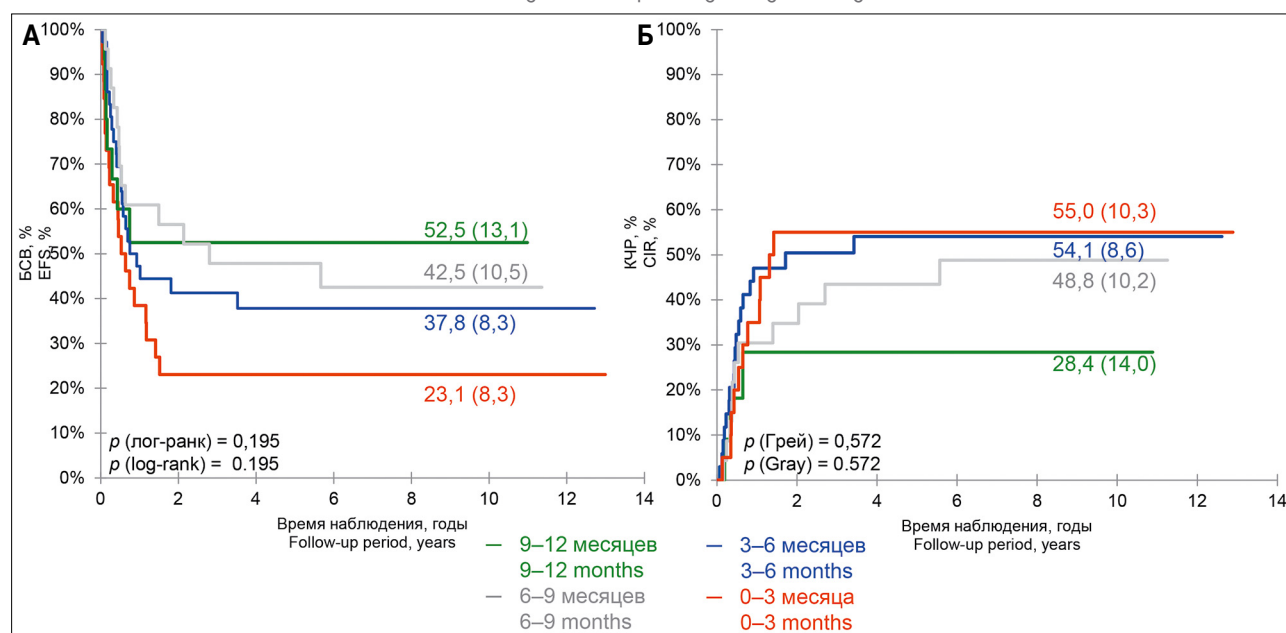
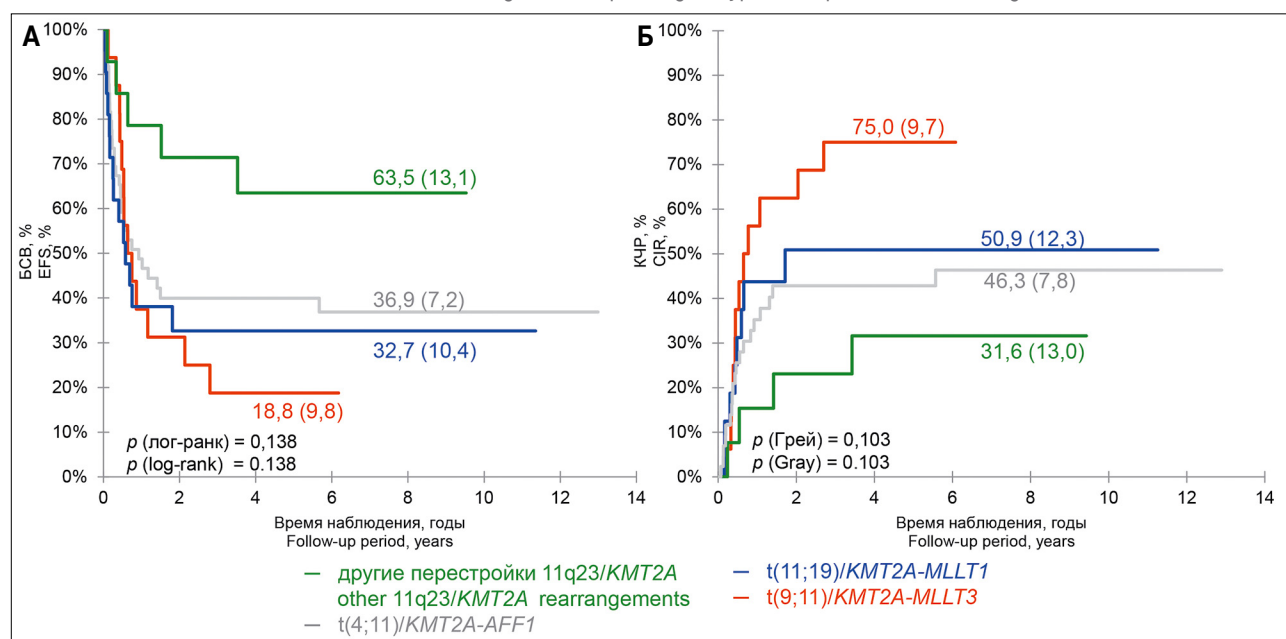


Рисунок 5

Результаты лечения пациентов первого года жизни с *KMT2A*-позитивным ОЛЛ по протоколу MLL-Baby в зависимости от типа перестройки 11q23/*KMT2A*: А – БСВ; Б – КЧР

Figure 5

Treatment outcome in infants with *KMT2A*-rearranged ALL depending on type of 11q23/*KMT2A* rearrangements: А – EFS; Б – CIR



стройками 11q23/*KMT2A*: БСВ – 65,3% (13,1%), КЧР – 31,6% (13,1%). Наименее благоприятные результаты зафиксированы у пациентов с транслокацией t(9;11)/*KMT2A-MLLT3*: БСВ – 18,8% (9,8%), КЧР – 75,0% (9,7%). Промежуточные результаты были выявлены среди больных с транслокациями t(4;11)/*KMT2A-AFF1* и t(11;19)/*MLL-MLLT1*: БСВ – 36,9% (7,2%) и 32,7% (10,4%) соответственно; КЧР – 46,3% (7,8%) и 50,9% (12,3%) соответственно. Интересно отметить, что внутри группы с другими перестройками 11q23/*KMT2A* нами было выявлено, что пациенты с транслокацией t(10;11)(p12;q23)/*KMT2A-MLLT10* имели более высокие показатели выживаемости по сравнению с теми, у кого была транслокация t(1;11)(p32;q23)/*KMT2A-EPS15*: БСВ – 83,3% (15,2%) и 25,0% (21,7%) соответственно, КЧР – 0,0% и 75,0% (21,8%) соответственно.

При анализе влияния CD10-негативного иммунофенотипа на исходы ОЛЛ было выявлено, что пациенты с CD10-негативным ($n = 72$) и CD10-позитивным ($n = 28$) имели практически идентичную БСВ – 36,9% (6,0%) и 35,74% (9,1%) соответственно ($p = 0,897$); достоверных различий в КЧР между этими группами также не зафиксировано: 47,5% (6,5%) и 52,5% (6,5%) соответственно ($p = 0,350$).

Существенные и статистически значимые различия получены при сравнении результатов терапии у пациентов с наличием и отсутствием поражения центральной нервной системы (ЦНС). В группе без поражения ЦНС БСВ составила 51,2% (6,8%), что было достоверно выше, чем у пациентов с нейролейкозом – 16,8% (6,3%) ($p = 0,007$) в первую очередь за счет более низкой КЧР – 33% (6,8%) и 73,3% (7,3%) соответственно ($p = 0,001$) (рисунк 6).

Статус костного мозга на 15-й день индукционной

терапии также был связан с прогнозом *KMT2A*-позитивного ОЛЛ у детей первого года жизни. Пациенты, у которых было менее 5% бластных клеток (M1), имели лучшие результаты терапии по сравнению с теми, у кого доля бластных клеток превышала 5% (M2 и M3) (рисунк 7).

Деление на группы риска, согласно критериям протокола Interfant-06, показало, что 78 исследованных пациентов были стратифицированы в группу промежуточного риска, 22 – в группу высокого риска. Пациенты, которые были отнесены к группе высокого риска по протоколу Interfant-06, имели достоверно более низкую БСВ и, соответственно, более высокую КЧР по сравнению с больными промежуточной группы риска (рисунк 8).

Для оценки влияния различных показателей на риск развития рецидива у детей первого года жизни с ОЛЛ и перестройками 11q23/*KMT2A*, включенных в исследование MLL-Baby, были проведены одно- и многофакторный анализы. В многофакторной модели было показано, что показателями, связанными с неблагоприятным исходом *KMT2A*-позитивного ОЛЛ в исследованной группе пациентов, были инициальный нейролейкоз ($p = 0,020$), инициальный гиперлейкоцитоз выше $300 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,028$), более 5% бластов в костном мозге на 15-й день терапии ($p = 0,012$), наличие транслокации t(11;19)/*KMT2A-MLLT1* ($p = 0,012$) (таблица 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полученные нами результаты лечения *KMT2A*-позитивного ОЛЛ у детей первого года жизни хорошо согласуются с ранее опубликованными данными

Рисунок 6

Результаты лечения пациентов первого года жизни с *KMT2A*-позитивным ОЛЛ по протоколу MLL-Baby в зависимости от наличия инициального нейролейкоза: А – БСВ; Б – КЧР.

Figure 6

Treatment outcome in infants with *KMT2A*-rearranged ALL depending on initial CNS involvement: A – EFS; Б – CIR

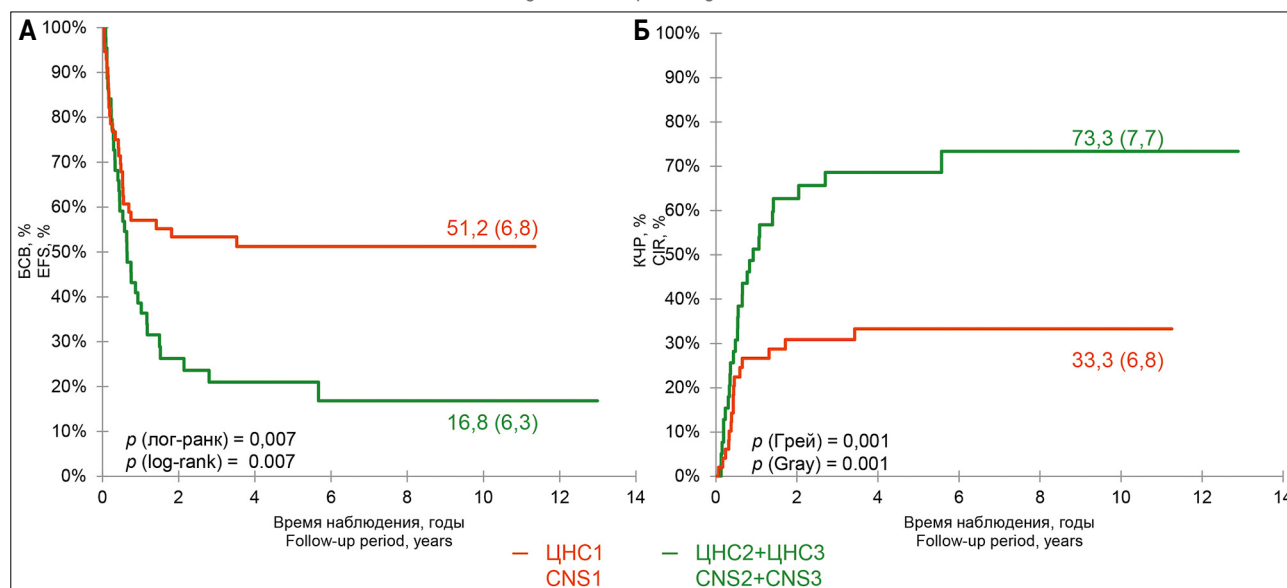


Таблица 4

Анализ прогностических показателей, связанных с БСВ, у пациентов первого года жизни с ОЛЛ и перестройками 11q23/KMT2A, включенных в исследование MLL-Baby

Table 4

Prognostic significance of parameters influenced on hazard of unfavorable event in infants with 11q23/KMT2A-rearranged acute lymphoblastic leukemia (ALL), enrolled in MLL-Baby study

Показатель Parameter	Число пациентов Number of patients	Количество событий Number of events	Однофакторный анализ Univariate analysis			Многофакторный анализ Multivariate analysis		
			Относительный риск Hazard ratio	95% ДИ 95% CI	p	Относительный риск Hazard ratio	95% ДИ 95% CI	p
Возраст Age								
6 месяцев и старше 6 month and older	38	20	Референтный Reference	–	0,135	–		
Младше 6 месяцев Less 6 months	62	42	1,503	0,881–2,564				
Пол Gender								
Женский Female	64	36	Референтный Reference	–	0,256	–		
Мужской Male	36	26	1,341	0,808–2,224				
Инициальный лейкоцитоз, × 10 ⁹ /л Initial white blood cell count, × 10 ⁹ /L								
< 100	51	27	Референтный Reference	–	0,033	–		
≥ 100*	49	35	1,729	1,044–2,864				
< 300	74	41	Референтный Reference	–	0,011	Референтный Reference	–	0,028
≥ 300	26	21	1,986	1,169–3,374		1,877	1,069–3,293	
Инициальное поражение ЦНС Initial CNS involvement								
Нет No	56	27	Референтный Reference	–	0,008	Референтный Reference	–	0,020
Да Yes	44	35	1,986	1,196–3,297		1,945	1,110–3,408	
Тип перестройки 11q23/KMT2A Type of 11q23/KMT2A rearrangement								
Другие 11q23/KMT2A* Other 11q23/KMT2A*	14	5	Референтный Reference	–	–	Референтный Reference	–	
t(11;19)/KMT2A-MLLT1	21	14	2,958	1,063–8,235	0,038	3,846	1,350–10,952	0,012
t(9;11)/KMT2A-MLLT3	16	13	3,062	1,086–8,631	0,034	2,165	0,746–6,285	0,156
t(4;11)/KMT2A-AFF1	49	30	2,398	0,929–6,190	0,071	2,474	0,943–6,490	0,066
Иммунофенотип Immunophenotype								
VI-ОЛЛ BI-ALL	71	44	Референтный Reference	–	–	–		
VII-ОЛЛ BII-ALL	15	11	1,106	0,571–2,144	0,765			
VIII-ОЛЛ BIII-ALL	12	7	0,860	0,387–1,910	0,711			
Другой Other	2	0	–	–	0,996			
Абсолютное количество бластных клеток на 8-й день терапии в периферической крови Absolute blast count on day 8 in peripheral blood								
< 1000	82	48	Референтный Reference	–	0,064	–		
≥ 1000	18	14	1,758	0,967–3,194				
Статус костного мозга на 15-й день индукционной терапии Bone marrow status on day 15 of induction remission								
M1	72	40	Референтный Reference	–	0,018	Референтный Reference	–	0,012
M2 + M3	28	22	1,887	1,115–3,192		2,024	1,169–3,505	
Достижение клинико-гематологической ремиссии на 36-й день индукционной терапии Complete remission achievement on day 36 of induction remission								
Да Yes	97	59	Референтный Reference	–	0,001	Референтный Reference	–	0,051
Нет No	3	3	7,872	2,288–27,080		0,997–15,343	0,338–2,934	
Группа риска по протоколу MLL-Baby MLL-Baby risk group								
Промежуточная Intermediate	50	32	Референтный Reference	–	0,942	–		
Высокая High	50	30	0,982	0,596–1,616				

Примечание. * – инициальный лейкоцитоз $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$ был исключен из многофакторного анализа
Note. * – initial white blood cell count $\geq 100 \times 10^9/\text{L}$ was excluded from multivariate analysis

протоколов CCG-1953, COG P9407, Interfant-99, Interfant-06, MLL96 + MLL98, в которых БСВ пациентов с перестройками 11q23/*KMT2A* находилась в диапазоне 33,6–38,6% [1, 2, 4, 5, 8]. Но при этом необходимо отметить, что в отличие от всех упомянутых протоколов терапии в MLL-Baby трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) не являлась частью протокола, а 2 пациента, которым она была выполнена в первой клинико-гематологической ремиссии, цензурировались датой проведения ТГСК.

Вместе с тем доля пациентов, которым проведена ТГСК, составляла 8,5% на протоколе Interfant-99, 17,1% на протоколе Interfant-06 и 33,0% на протоколе CCG-1953 [1, 5, 8]. А наилучшие на сегодняшний день результаты по лечению ОЛЛ у детей первого года жизни (БСВ – 66,2%), которые были получены японской исследовательской группой при лечении по протоколу MLL-10, сопровождались тем, что ТГСК была выполнена почти в половине случаев (47,8%) *KMT2A*-позитивного ОЛЛ [10].

Рисунок 7

Результаты лечения пациентов первого года жизни с *KMT2A*-позитивным ОЛЛ по протоколу MLL-Baby в зависимости от количества бластов в костном мозге на 15-й день индукции ремиссии: M1 – менее 5% бластов; M2 – 5–25% бластов; M3 – более 25% бластов. А – БСВ; Б – КЧР

Figure 7

Treatment outcome in infants with *KMT2A*-rearranged ALL depending on bone marrow status on day 15 of induction remission: M1 – less 5%; M2 – 5–25%; M3 – more 25%. A – EFS; Б – CIR

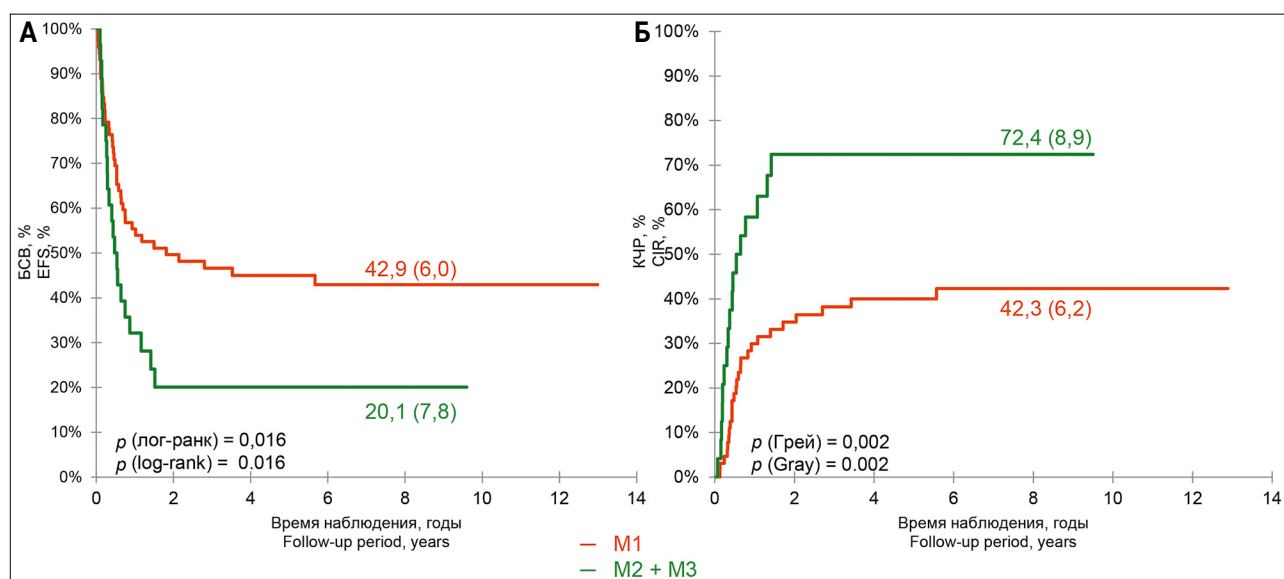
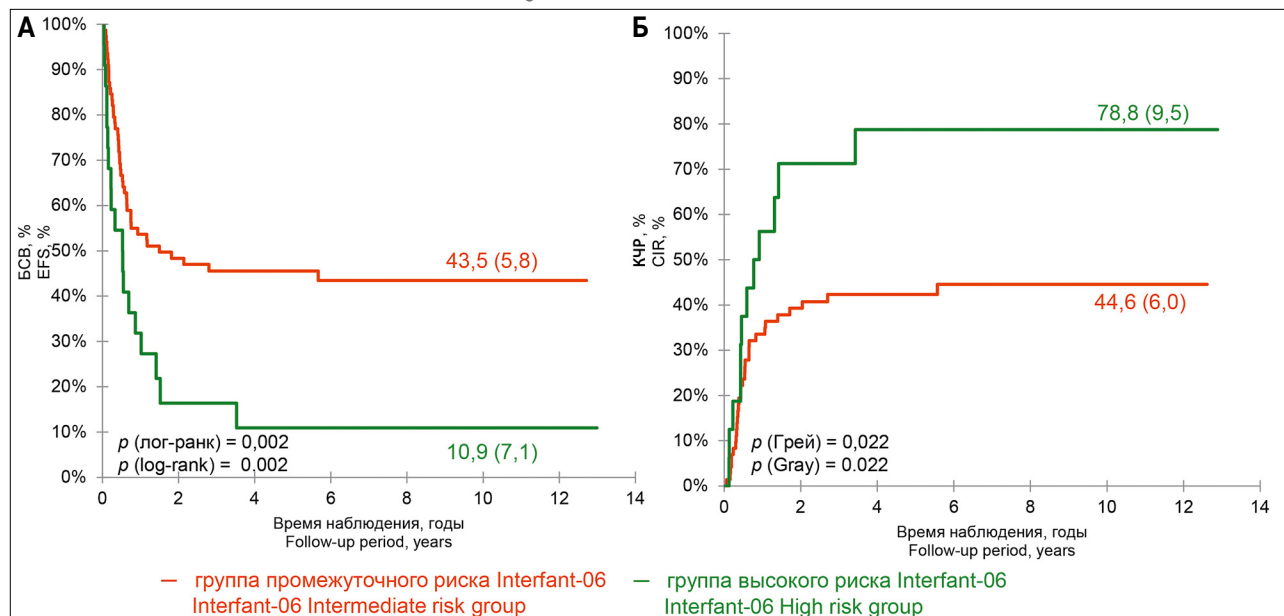


Рисунок 8

Результаты лечения пациентов первого года жизни с *KMT2A*-позитивным ОЛЛ по протоколу MLL-Baby при применении стратификации по протоколу Interfant-06: А – БСВ; Б – КЧР

Figure 8

Treatment outcome in infants with *KMT2A*-rearranged ALL based on Interfant-06 stratification: А – EFS; Б – CIR



Худшие результаты терапии у мальчиков по сравнению с девочками прямо противоположны данным, полученным на протоколах Interfant-06 и MLL-10 [1, 10], но нужно отметить, что в этих работах *KMT2A*-позитивные и *KMT2A*-негативные анализировались вместе, тогда как нами исследовались только пациенты с наличием перестроек 11q23/*KMT2A*.

Возраст возникновения ОЛЛ у пациентов первого года жизни является важным прогностическим фактором. Чем младше пациент, тем менее благоприятны исходы терапии ОЛЛ [2, 3, 5, 8]. В нашей работе получены сходные результаты, свидетельствующие о том, что наименее благоприятный прогноз был у пациентов, у которых ОЛЛ диагностирован в возрасте младше 3 месяцев, а наиболее благоприятный – у больных в возрасте 9–12 месяцев. Однако в отличие от ранее опубликованных данных [1, 2, 5, 8, 10] нами не было выявлено значительной разницы в прогнозе пациентов, у которых ОЛЛ выявлен в возрасте 3–6 и 6–9 месяцев, что может быть объяснено различными терапевтическими подходами. Отчасти эти различия могут быть связаны с тем, что в ряде случаев анализировалось влияние возраста не только в группе с перестройками 11q23/*KMT2A*, а в смешанной группе [2, 8], в которой, начиная с возраста 6 месяцев, значительно возрастала доля пациентов без перестроек 11q23/*KMT2A*, прогноз которой значительно лучше. Выживаемость детей, у которых ОЛЛ был диагностирован на первом месяце жизни, оказалась полностью идентичной с данными, полученными на протоколах Interfant-99 (BCV – 20,0%) [34] и MLL-96/MLL-98 [35]. Однако следует отметить, что только 83% пациентов младше 1 месяца из публикации группы Interfant имели перестройки 11q23/*KMT2A*, в то время как в данной работе они были выявлены у всех. А на протоколах MLL-96/MLL-98 3 из 5 пациентов, включенных в анализ, была проведена ТГСК [35].

Среди различных перестроек 11q23/*KMT2A* наименее благоприятный прогноз был зафиксирован нами у пациентов с транслокацией t(9;11)/*KMT2A-MLL3*, это не согласуется с ранее опубликованными данными [1, 10, 36], но частично может быть связано с тем, что подавляющее большинство описанных нами больных с данной перестройкой (62,5%) имели также инициальное поражение ЦНС лейкоэмическими бластами, что, по данным многофакторного анализа, являлось независимым прогностически неблагоприятным фактором у детей с *KMT2A*-позитивным ОЛЛ. Отдельно следует отметить очень обнадеживающие результаты терапии для пациентов с транслокацией t(10;11)(p12;q23)/*KMT2A-MLL10*, но небольшое количество наблюдений заставляет с осторожностью относиться к данному выводу. Тем не менее, если данные результаты найдут свое подтверждение в дальнейшем, это может служить одним из аргу-

ментов о различиях в патогенезе *KMT2A*-позитивного ОЛЛ и *KMT2A*-позитивного острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) у детей первого года жизни. Наличие t(10;11)(p12;q23)/*KMT2A-MLL10* является фактором высокого риска при ОМЛ [37]. Наличие транслокации t(4;11)/*KMT2A-AFF1* не ухудшало прогноз в исследованной группе пациентов, что, скорее всего, было связано с более интенсивной терапией блоками высокого риска.

Мы не смогли подтвердить в исследуемой группе пациентов прогностически неблагоприятную роль CD10-негативного иммунофенотипа по сравнению с CD10-позитивным, о чем писала группа Interfant [1, 5]. Возможно, здесь сыграли роль географические отличия. Но этот вопрос требует дополнительного изучения.

Стратификационные критерии протокола Interfant-06 стали своего рода «золотым стандартом», выделяющим прогностически наименее благоприятную группу пациентов среди всех детей первого года жизни с ОЛЛ [1]. Их применение оказалось эффективным и в изучаемой нами группе пациентов. Более того, как хорошо видно из сравнения групп риска протокола MLL-Baby, основанных на типе перестройки 11q23/*KMT2A*, и протокола Interfant-06, они выделяют разные подгруппы пациентов (таблица 5).

В плане организации будущих клинических исследований многообещающими выглядят данные по использованию деметилирующих агентов [38], а также иммунотерапевтических препаратов, воздействующих на CD19-позитивные клетки, с последующей ТГСК [39, 40]. Еще одним обязательным условием успеха будущего протокола является использование результатов определения минимальной остаточной болезни. Наши ранее опубликованные данные по оценке минимальной остаточной болезни в рамках протокола MLL-Baby позволили однозначно разделить пациентов на тех, кто может быть излечен с помощью стандартной химиотерапии, и тех, кому необходимы альтернативные способы лечения [41, 42].

Таблица 5

Распределение пациентов по группам риска протоколов MLL-Baby и Interfant-06 (в скобках указано количество рецидивов)

Table 5
Distribution of patients by risk groups of the MLL-Baby and Interfant-06 protocols (the number of relapses is indicated in brackets)

Группа риска протокола MLL-Baby MLL-Baby risk group	Группа риска протокола Interfant-06 Interfant-06 risk group		
	Промежуточная Intermediate	Высокая High	Всего Total
Промежуточная Intermediate	39 (17)	11 (7)	50 (24)
Высокая High	39 (14)	11 (5)	50 (19)
Всего Total	78 (31)	22 (12)	100 (43)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог проделанной работе, считаем нужным отметить, что протокол MLL-Baby был специально разработан для лечения ОЛЛ у детей первого года жизни. В его основе лежала комбинация химиотерапии с полностью транс-ретиноевой кислотой. Благодаря существованию мультицентровой группы «Москва–Берлин», по протоколу MLL-Baby проводилось лечение ОЛЛ у детей первого года в 25 клиниках РФ и РБ. Двумя важными диагностическими новшествами протокола стали 100% пересмотр всех инициальных образцов пациентов, а также оценка минимальной остаточной болезни в 1 из 3 базовых лабораторий протокола – в ОДКБ (Екатеринбург), НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева (Москва) и РНПЦ ДОГИ (Минск). Это дало возможность предоставить равный доступ к максимально возможной диагностике на тот момент времени для всех пациентов первого года жизни с ОЛЛ или подозрением на него.

Хотя полученные нами результаты лечения *KMT2A*-позитивного ОЛЛ у детей первого года жизни и не уступают подавляющему большинству междуна-

родных исследований, они по-прежнему гораздо ниже, чем у детей старше 1 года. Факторами, ассоциированными с неблагоприятным прогнозом ОЛЛ с перестройками *11q23/KMT2A*, у пациентов, включенных в исследование MLL-Baby, являются инициальное поражение ЦНС, более 5% бластов в костном мозге на 15-й день терапии, инициальный лейкоцитоз выше $300 \times 10^9/\text{л}$, наличие транслокации *t(11;19)/KMT2A-MLL1*.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Tsaur G.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9881-6221>
Popov A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0889-6986>
Olshanskaya Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2352-7716>
Verzhbitskaya T.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9329-1828>
Aleinikova O.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0143-1921>
Saveliev L.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5180-6560>
Myakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>
Karachunskiy A.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9300-5198>
Roumiantsev A.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1643-5960>
Fechina L.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1885-3912>

Литература

- Pieters R., De Lorenzo P., Ancliffe P., Aversa L., Brethon B., Biondi A., et al. Outcome of infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukemia treated with the Interfant-06 protocol: results from an international phase III randomized study. *J Clin Oncol* 2019; 37 (25): 2246–56. DOI: 10.1200/JCO.19.00261
- Dreyer Z., Hilden J., Jones T., Devidas M., Winick N., Willman C., et al. Intensified chemotherapy without SCT in infant ALL: results from COG P9407 (Cohort 3). *Pediatr Blood Cancer*. 2015; 62 (3): 419–26. DOI: 10.1002/pbc.25322
- Pui C.-H., Chessells J., Camitta B., Baruchel A., Biondi A., Boyett J., et al. Clinical heterogeneity in childhood acute lymphoblastic leukemia with *11q23* rearrangements. *Leukemia* 2003; 17(4): 700–6. DOI: 10.1038/sj.leu.2402883
- Tomizawa D., Koh K., Sato T., Kinukawa N., Morimoto A., Itoyama K., et al. Outcome of risk-based therapy for infant acute lymphoblastic leukemia with or without an MLL gene rearrangement, with emphasis on late effects: a final report of two consecutive studies, MLL96 and MLL98, of the Japan Infant Leukemia Study Group. *Leukemia* 2007; 22 (11): 2258–63. DOI: 10.1038/sj.leu.2404903
- Pieters R., Schrappe M., de Lorenzo P., Hann I., De Rossi G., Felice M., et al. A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (Interfant-99): an observational study and a multicentre randomised trial. *Lancet* 2007; 370: 240–50. DOI: 10.1016/S0140-6736(07)61126-X
- Meyer C., Burmeister T., Gröger D., Tsaur G., Fechina L., Renneville A., et al. The MLL recombinome of acute leukemias in 2017. *Leukemia* 2018; 32 (2): 273–84. DOI: 10.1038/leu.2017.213
- HUGO gene nomenclature committee. Доступно по: https://www.genenames.org/data/gene-symbol-report/#/!hgnc_id/HGNC:7132. Дата обращения 26.01.2021.
- Hilden J., Dinndorf P., Meerbaum S., Sather H., Villaluna D., Heerema N., et al. Analysis of prognostic factors of acute lymphoblastic leukemia in infants: report on CCG 1953 from the Children's Oncology Group. *Blood* 2006; 108 (2): 441–51. DOI: 10.1182/blood-2005-07-3011
- Chen C., Sorensen P., Domer P., Reaman G., Korsmeyer S., Heerema N., et al. Molecular rearrangements on chromosome 11q23 predominate in infant acute lymphoblastic leukemia and are associated with specific biologic variables and poor outcome. *Blood* 1993; 81 (9): 2386–93.
- Tomizawa D., Miyamura T., Imamura T., Watanabe T., Saito A.M., Ogawa A., et al. A risk-stratified therapy for infants with acute lymphoblastic leukemia: a report from the JPLSG MLL-10 trial. *Blood* 2020; 136 (16): 1813–23. DOI: 10.1182/blood.2019004741
- Brown P., Kairalla J., Wang C., Dreyer Z., Salzer W., Sorenson M., et al. Addition of FLT3 inhibitor lestaurtinib to post-induction chemotherapy does not improve outcomes in MLL-rearranged infant acute lymphoblastic leukemia (ALL): AALL0631, a Children's Oncology Group study [abstract]. *Pediatr Blood Cancer* 2016; 63 (Suppl S3). Abstract S7.
- Biondi A., Rizzari C., Valsecchi M.G., De Lorenzo P., Aricò M., Basso G., et al. Role of treatment intensification in infants with acute lymphoblastic leukemia: results of two consecutive AIEOP studies. *Haematologica* 2006; 91 (4): 534–7. DOI: 10.3324/haemat.2006.91.4.534
- Chessells J., Harrison C., Kempster H., Webb D., Wheatley K., Hann I., et al. Clinical features, cytogenetics and outcome in acute lymphoblastic and myeloid leukaemia of infancy: report from the MRC Childhood Leukaemia working party. *Leukemia* 2002; 16 (5): 776–84.
- Reaman G., Spoto R., Sensel M., Lange B., Feusner J., Heerema N., et al. Treatment outcome and prognostic factors for infants with acute lymphoblastic leukemia treated on two consecutive trials of the Children's Cancer Group. *J Clin Oncol* 1999; 17 (2): 445–55.
- Dördelmann M., Reiter A., Borkhardt A., Ludwig W.-D., Götz N., Viehmann S., et al. Prednisone response is the strongest predictor of treatment outcome in infant

- acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1999; 94 (4): 1209–17. DOI: 10.1182/blood.V94.4.1209
16. Silverman L., McLean T., Gelber R., Donnelly M., Gilliland D., Tarbell N., et al. Intensified therapy for infants with acute lymphoblastic leukemia: results from the Dana-Farber Cancer Institute Consortium. *Cancer* 1997; 80 (12): 2285–95. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0142(19971215)80%3A12<2285%3A%3AAID-CNCR10>3.0.CO%3B2-Q
 17. Frankel L., Ochs J., Shuster J., Dubowy R., Bowman W., Hockenberry-Eaton M., et al. Therapeutic trial for infant acute lymphoblastic leukemia: the Pediatric Oncology Group experience (POG 8493). *J Pediatr Hematol Oncol* 1997; 19 (1): 35–42. DOI: 10.1097/00043426-199701000-00005
 18. Ferster A., Bertrand Y., Benoit Y., Boilletot A., Behar C., Marguerite G., et al. Improved survival for acute lymphoblastic leukaemia in infancy: the experience of EORTC-Childhood Leukaemia Cooperative Group. *Br J Haematol* 1994; 86 (2): 284–90.
 19. Fechina L., Shorikov E., Tsaur G., Savelev L., Popov A., Aleinikova O., et al. Contribution of all-trans retinoic acid to improved early relapse-free outcome in infant acute lymphoblastic leukemia comparing to the chemotherapy alone. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2007; 110 (11): 832A. DOI: 10.1182/blood.V110.11.2828.2828
 20. Popov A., Buldini B., de Lorenzo P., Disarò S., Verzhbitskaya T., Movchan L., et al. Prognostic value of minimal residual disease measured by flow-cytometry in two cohorts of infants with acute lymphoblastic leukemia treated according to either MLL-Baby or Interfant protocols. *Leukemia* 2020; 34 (11): 3042–6. DOI: 10.1038/s41375-020-0912-z
 21. Bennett J., Catovsky D., Daniel M., Flandrini G., Galton D., Gralnick H., et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 1976; 33 (4): 451–8.
 22. Bene M.C., Castoldi G., Knapp W., Ludwig W.D., Matutes E., Orfao A., et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995; 9 (10): 1783–6.
 23. Béné M.C., Nebe T., Bettelheim P., Buldini B., Bumbea H., Kern W., et al. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: a consensus proposal of the European LeukemiaNet Work Package 10. *Leukemia* 2011; 25 (4): 567–74. DOI: 10.1038/leu.2010.312
 24. Новикова И.А., Вержбицкая Т.Ю., Movchan Л.В., Цаур Г.А., Белевцев М.В., Попов А.М. Стандарт российско-белорусской кооперативной группы по иммунофенотипированию острого лимфобластного лейкоза у детей. *Онкогематология* 2018; 13 (1): 73–82. DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-1-73-82
 25. Shaffer L., Tommerup N., eds. *ISCN 2005: An International System For Human Cytogenetic Nomenclature* (2005). Basel: Karger; 2005.
 26. Schaffer L., Slovak M., Campbell L., eds. *ISCN 2009: An International System For Human Cytogenetic Nomenclature* (2009). Basel: Karger; 2009.
 27. Schaffer L., McGowan-Jordan J., Schmid M., eds. *ISCN 2013: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature* (2013). Basel: Karger; 2013.
 28. Borkhardt A., Repp R., Haupt E., Brettreich S., Buchen U., Gossen R., et al. Molecular analysis of MLL/AF4 recombination in infant acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1994; 8 (4): 549–53.
 29. Pallisgaard N., Hokland P., Riishøj D., Pedersen B., Jørgensen P. Multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction for simultaneous screening of 29 translocations and chromosomal aberrations in acute leukemia. *Blood* 1998; 92 (2): 574–88. DOI: 10.1182/blood.V92.2.574
 30. Цаур Г.А., Попов А.М., Фечина Л.Г., Румянцев С.А. Методические основы диагностики и мониторинга минимальной остаточной болезни при острых лейкозах у детей первого года жизни. *Онкогематология* 2016; 11 (1): 62–74. DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-1-62-74
 31. Цаур Г.А., Плеханова О.М., Гиндина Т.Л., Ольшанская Ю.В., Попов А.М., Волочник Е.В. и др. Применение метода флуоресцентной гибридизации in situ для выявления перестроек гена MLL при острых лейкозах у детей первого года жизни. *Медицинская генетика* 2012; 7: 35–45.
 32. Meyer C., Schneider B., Reichel M., Angermueller S., Strehl S., Schnittger S., et al. Diagnostic tool for the identification of MLL rearrangements including unknown partner genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 449–54. DOI: 10.1073/pnas.0406994102
 33. Цаур Г.А., Друй А.Е., Попов А.М., Семенихина Е.Р., Ригер Т.О., Иванова А.С. и др. Возможность использования микроструйных биочипов для оценки качества и количества РНК у детей с онкологическими и онкогематологическими заболеваниями. *Вестник уральской медицинской академической науки* 2011; 4: 107–11.
 34. van der Linden M., Valsecchi M.G., de Lorenzo P., Möricke A., Janka G., Leblanc T., et al. Outcome of congenital acute lymphoblastic leukemia treated on the Interfant-99 protocol. *Blood* 2009; 114: 3764–8. DOI: 10.1182/blood-2009-02-204214
 35. Ishii E., Oda M., Kinugawa N., Oda T., Takimoto T., Suzuki N., et al. Features and outcome of neonatal leukemia in Japan: experience of the Japan Infant Leukemia Study Group. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 47: 268–72. DOI: 10.1002/pbc.20599
 36. Robinson B., Devidas M., Carroll A., Harvey R., Heerema N., Willman C., et al. Specific MLL partner genes in infant acute lymphoblastic leukemia (ALL) associated with outcome are linked to age and white blood cell count (WBC) at diagnosis: A report of the Children's Oncology group (COG) P9407. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2009; 114 (11): 907. DOI: 10.1182/blood.V114.22.907.907
 37. Balgobind B., Raimondi S., Harbott J., Zimmermann M., Alonzo T., Auvinon A., et al. Novel prognostic subgroups in childhood 11q23/MLL-rearranged acute myeloid leukemia: results of an international retrospective study. *Blood* 2009; 114: 2489–96. DOI: 10.1182/blood-2009-04-215152
 38. Schafer E., Irizarry R., Negi S., McIntyre E., Small D., Figueroa M., et al. Promoter hypermethylation in MLL-r infant acute lymphoblastic leukemia: Biology and therapeutic targeting. *Blood* 2010; 115 (23): 4798–809. DOI: 10.1182/blood-2009-09-243634
 39. Clesham K., Rao V., Bartram J., Ancliff P., Ghorashian S., O'Connor D., et al. Blinatumomab for infant acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2020; 135 (17): 1501–4. DOI: 10.1182/blood.2019004008
 40. Maude S., Laetsch T., Buechner J., Rives S., Boyer M., Bittencourt H., et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2018; 378: 439–48. DOI: 10.1056/NEJMoa1709866
 41. Цаур Г.А., Попов А.М., Наседкина Т.В., Каленник О.В., Кустанович А.М., Алеиникова О.В. и др. Прогностическое значение минимальной остаточной болезни, определенной путем выявления химерных транскриптов у детей первого года жизни, больных острым лимфобластным лейкозом, получающих терапию по протоколу MLL-baby. *Гематология и трансфузиология* 2012; 57 (4): 12–22.
 42. Tsaur G., Popov A., Riger T., Kustanovich A., Solodovnikov A., Shorikov E., et al. Prognostic value of minimal residual disease measured by fusion-gene transcript in infants with KMT2A-rearranged acute lymphoblastic leukaemia treated according to the MLL-Baby Protocol. *Br J Haematol* (published online ahead of print 2021, Feb 14.). DOI: 10.1111/bjh.17304

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 17.10.2020
Принята к печати 02.02.2021

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-40-45

Результаты использования кладрибина у детей с острым миелоидным лейкозом при лечении по протоколу ОМЛ-ММ-2006

Д.А. Венёв, И.И. Калинина, Т.Ю. Салимова, Д.А. Евсеев, В.Е. Матвеев, К.С. Антонова, У.Н. Петрова, Д.Д. Байдильдина, Г.А. Новичкова, М.А. Масчан, А.А. Масчан

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

Контактная информация:

Венёв Дмитрий Александрович,
врач отделения детской гематологии/
онкологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: venyov@bk.ru

Целью данной работы послужила оценка результатов применения кладрибина в качестве постремиссионной терапии у детей при лечении по протоколу ОМЛ-ММ-2006. В статье представлен опыт лечения детей с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) на базе Российской детской клинической больницы, а в последующем в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в рамках протокола ОМЛ-ММ-2006. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. За период с 2006 по 2018 г. в исследование были включены 25 детей. В качестве сравнения для оценки эффективности терапии выбрана оставшаяся когорта пациентов из промежуточной группы риска, составившая 83 ребенка. В конечном счете добавление кладрибина в консолидирующей терапии не показало значимого терапевтического эффекта (бессобытийная выживаемость составила $0,47 \pm 0,1$ для группы с кладрибином и $0,52 \pm 0,06$ для контрольной группы), в том числе на развитие рецидива (рецидив случился у 56% пациентов в группе с применением кладрибина и у 34,5% в контрольной группе). Таким образом, исследование доказало, что дальнейшее включение кладрибина в консолидирующую терапию для первичных ОМЛ нецелесообразно.

Ключевые слова: дети, острый миелоидный лейкоз, $t(9;11)$, кладрибин, протокол ОМЛ-ММ-2006

Венёв Д.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 40–45.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-40-45

Results of the use of cladribine in children with acute myeloid leukemia in the treatment according to the AML-MM-2006 protocol

D.A. Venyov, I.I. Kalinina, T.Yu. Salimova, D.A. Evseev, V.E. Matveev, K.S. Antonova, U.N. Petrova, D.D. Baidildina, G.A. Novichkova, M.A. Maschan, A.A. Maschan

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

The aim of this work was to evaluate the results of the use of cladribine in the treatment according to the AML-MM-2006 protocol as post-remission therapy in children. 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. The article presents the experience of treating children with AML at the Russian Children's Clinical Hospital, and later at the Dmitry Rogachev National Research Center within the framework of the AML-MM-2006 protocol. For the period from 2006 to 2018, 25 children were included in the study. As a comparison, to assess the effectiveness of therapy, the remaining cohort of patients from the intermediate risk group, which consisted of 83 children, was selected. Ultimately, the addition of cladribine in consolidation therapy did not show a significant therapeutic effect (event-free survival 0.47 ± 0.1 for the cladribine group, 0.52 ± 0.06 for the control group), including the development of relapse (56% patients in the cladribine group had a relapse, in the control group – in 34.5%). Thus, the study proved that further inclusion of cladribine in consolidation therapy for primary AML is inappropriate.

Key words: children, acute myeloid leukemia, $t(9;11)$, cladribine, AML-MM-2006 protocol

Venyov D.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 40–45.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-40-45

За прошедшие 30 лет прогноз для детей с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) значительно улучшился. Применяемые современные режимы полихимиотерапии (ПХТ) позволяют достичь полной ремиссии (ПР) до 90% всех случаев заболевания и 5-летней общей выживаемости (ОВ) у 60% пациентов [1]. При этом прогресс в результатах лечения ОМЛ был достигнут не за счет разработки принципиально новых терапевтических схем или внедрения новых препаратов, а благодаря более точному делению пациентов на группы риска, осно-

ванному прежде всего на цитогенетических и молекулярно-генетических характеристиках, а также улучшению сопроводительной терапии, своевременному проведению трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) и улучшению прогноза у рецидивировавших пациентов [1, 2]. Уже 20 лет назад стало ясно, что потенциал классической терапии ОМЛ, основанной на индукции стандартными дозами цитарабина в сочетании с антрациклинами, короткой постремиссионной терапии курсами высокодозного цитарабина (1000–3000 мг/м² на введение 6–10 доз

в течение 3–5 дней в сочетании с антрациклинами и/или этопозидом) и ТГСК в группах высокого риска рецидива достиг своего плато. В связи с этим предпринимаются попытки повышения эффективности лечения с помощью добавления в лечебные протоколы как инновационных таргетных препаратов (гемтузумаб озогомицин, ингибиторы FLT3), так и открытых 40–50 лет назад нуклеозидных и 5-аза-замещенных пиримидиновых аналогов [3–8]. Одним из таких примеров является использование препарата из группы антагонистов пуринов – 2-хлор-2'-дезоксиденозина – кладрибина (2-CdA) [4, 9–12].

Первые попытки использования кладрибина при ОМЛ у детей предприняты и описываются в St. Jude Children's Research Hospital в начале 1990-х годов. По результатам исследования монотерапии кладрибином в качестве терапии индукции было обнаружено, что он показал свою эффективность только для пациентов с монобластными лейкомиями (M5 по FAB-классификации), в частности при ОМЛ с транслокацией t(9;11) [8]. Пятилетняя бессобытийная выживаемость (БСВ) у них составила порядка 60–65%, что на 15–20% выше относительно всех пациентов, получивших кладрибин.

Таким образом, благодаря использованию 2-CdA, в группе M5 и t(9;11) достигнуты результаты терапии, сопоставимые с результатами лечения больных с благоприятными изменениями кариотипа. Напротив, для некоторых групп пациентов, например, с t(8;21), исход был хуже при сравнении с контрольной группой [10].

Дальнейшие исследования использования кладрибина в первой линии терапии, а также при рецидивах и рефрактерных ОМЛ привели к аналогичным выводам в отношении эффективности моноцитарных вариантов ОМЛ и ОМЛ с транслокацией t(9;11) [4, 5, 13–15].

В данной работе мы суммируем собственные данные по применению кладрибина в качестве постремиссионной терапии у детей с первично диагностированными ОМЛ, получавших лечение согласно протоколу ОМЛ-ММ-2006.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Согласно дизайну протокола на ветвь терапии с кладрибином стратифицировались пациенты с установленным диагнозом ОМЛ и наличием t(9;11) при M1, M2, M4, M5 и больные с морфологическим вариантом M5 и нормальным кариотипом без дополнительных молекулярных перестроек, определяющих стратификацию в группу высокого риска. Исследование ОМЛ-ММ-

2006 проводилось на базе Российской детской клинической больницы, а в последующем в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Согласно схеме терапии все пациенты, кроме детей с inv16 (CBFb-MYH), получали двойную индукцию – блок ADE-HAM. После восстановления гемопоэза оценивался ответ на терапию. Консолидация ремиссии для больных исследуемой группы состояла из 2 или 3 блоков терапии (в зависимости от возможности применения ТГСК). Основой первых двух блоков консолидации служили 2-CdA и высокие дозы цитозин-арабинозида (Ara-C) (таблица 1). Пациентам без HLA-идентичного родственного донора проводился цикл химиотерапии AME-H.

Всего в протокол ОМЛ-ММ-2006 за период с 2006 по 2018 г. были включены 233 пациента. Цитогенетическое исследование проведено 207 больным и у 156 (75%) из них обнаружены те или иные цитогенетические аномалии (рисунок 1). Молекулярно-генетическое исследование было выполнено у 201 пациента и выявило значимые аномалии у 105 (52,2%).

У 12 пациентов выявлена t(9;11) и еще у 3 больных с нормальным кариотипом – химерный ген *KMT2A-AF9*. Таким образом, общая частота данной аномалии составила 7,5%. Эти 15 пациентов, а также 10 детей с M5-субвариантом ОМЛ без цито- и молекулярно-генетических аберраций, соответствующих высокой или стандартной группе риска, получили постремиссионную терапию с включением кладрибина. Данные этих 25 пациентов отражены в таблице 2.

Таблица 1
Циклы ПХТ для пациентов, стратифицированных на ветвь с кладрибином, по протоколу ОМЛ-ММ-2006

Table 1
Polychemotherapy cycles for patients of the cladribine branch of the AML-MM-2006 protocol

Цикл Cycle	Препараты Drugs	Дозировка Dosage	Дни Days
ADE	AraC	100 мг/м ² каждые 12 ч 100 mg/m ² every 12 h	1–7
	Даунорубин Daunorubicin	45 мг/м ² каждые 24 ч 45 mg/m ² every 24 h	4–6
	Этопозид Etoposide	100 мг/м ² каждые 24 ч 100 mg/m ² every 24 h	1–3
HAM	AraC	1000 мг/м ² каждые 12 ч 1000 mg/m ² every 12 h	14–15
	Митоксантрон Mitoxantrone	10 мг/м ² каждые 24 ч 10 mg/m ² every 24 h	14–15
CLAI	Кладрибин Cladribine	9 мг/м ² каждые 24 ч 9 mg/m ² every 24 h	1–5
	AraC	2000 мг/м ² каждые 12 ч 2000 mg/m ² every 12 h	1–5
	Идарубин Idarubicin	10 мг/м ² каждые 24 часа 10 mg/m ² every 24 h	3–5
CLAE	Кладрибин Cladribine	9 мг/м ² каждые 24 ч 9 mg/m ² every 24 h	1–5
	AraC	2000 мг/м ² каждые 12 ч 2000 mg/m ² every 12 h	1–5
	Этопозид Etoposide	100 мг/м ² каждые 24 ч 100 mg/m ² every 24 h	1–3
AME-H	AraC	2000 мг/м ² каждые 12 ч 2000 mg/m ² every 12 h	1–4
	Этопозид Etoposide	500 мг/м ² 500 mg/m ²	1
	Митоксантрон Mitoxantrone	15 мг/м ² каждые 24 ч 15 mg/m ² every 24 h	3–4

Среди всей группы детей было 11 (44 %) девочек и 14 (56 %) мальчиков, медиана возраста составила 9 (1–17,4) лет. У 23 (92%) из 25 больных был М5-вариант, у 1 – М4 и у 1 – Мх. Медиана инициального количества лейкоцитов в периферической крови составила $16 \times 10^9/\text{л}$ ($0,6\text{--}94,8 \times 10^9/\text{л}$), медиана количества бластных клеток в костном мозге – 84,36% (29,2–99%). У 4 пациентов выявлен иници-

Рисунок 1

Схема протокола ОМЛ-ММ-2006 для пациентов, стратифицированных на ветвь с кладрибином

Figure 1

Scheme of the AML-MM-2006 protocol for patients stratified into the cladribine branch

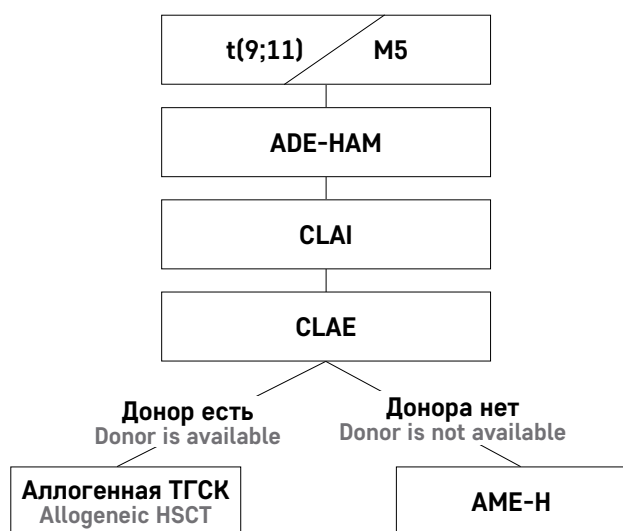


Таблица 2

Данные хромосомного и молекулярного методов исследования у пациентов, включенных в данную работу ($n = 25$)

Table 2

Data from chromosomal and molecular research methods in patients included in the study ($n = 25$)

Номер пациента Patient No.	Кариотип Karyotype	Транскрипт Transcript	Дополнительные мутации Additional mutations	Число больных Number of patients	Вариант по классификации FAB Variant according to the FAB classification
1, 2	Нет данных No data available	Транслокаций нет No translocations	Нет данных No data available	2	M5
3	Нет данных No data available	Транслокаций нет No translocations	C-kit ex18 L831P	1	M5
4	Нет митозов No mitoses	Транслокаций нет No translocations	Нет данных No data available	1	M5
5–7	46XY, 46XX	Транслокаций нет No translocations	Нет No	3	M5
8–11	Нет митозов No mitoses	MLL/AF9	Нет данных No data available	4	1 – M4, 3 – M5
12	Нет данных No data available	MLL/AF9	Нет No	1	M5
13–19	46XY,t(9;11); 46XX,t(9;11)	MLL/AF9	Нет No	7	1 – Мх, 6 – М5
20	46XY,t(9;11) – 1 митоз 46XY,t(9;11) – 1 mitosis	MLL/AF9	Нет No	1	M5
21	46XX,der(11) – 20 митозов 46XX,der(11) – 20 mitoses	MLL/AF9	Нет No	1	M5
22	45XY,t(9;11)(p21;q23),rob(13;14)	MLL/AF9	Нет No	1	M5
23	47XX,+der(1)t(1;19)(p13;?)	MLL/AF9	Нет No	1	M5
24	47XY,+8,t(9;11)(p12;q23)	+8, MLL/AF9	N-RAS	1	M5
25	48,XX,der(9),+der(14),+21,+21	Транслокаций нет No translocations	Нет No	1	M5

альный нейрорлейкоз, у 2 больных диагностированы другие экстрамедуллярные поражения без сопутствующего поражения центральной нервной системы.

Статистический анализ выполнен при помощи программного обеспечения Statistica 6.0. Вероятность ОВ, БСВ и безрецидивной выживаемости (БРВ) рассчитана по методу Каплана–Майера. Сравнение выживаемости между группами выполнено при помощи log-rank-теста. Для непараметрических количественных данных определяли медиану, а также максимум и минимум вариационного ряда. Достоверность различий между исследуемыми группами исчислялась по методу Манна–Уитни, критерию χ^2 , точного теста Фишера, Крускала–Уоллиса. Оценивалась достоверная вероятность p , различия считались достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

После проведения двойной индукции АДЕ-НАМ клиничко-гематологическая ремиссия (восстановление нормальных показателей крови, бластоз в миелограмме $< 5\%$, санация ликвора, нормализация размеров органов и разрешение экстрамедуллярных очагов) была достигнута у всех 25 (100%) пациентов. В дальнейшем 6 (24%) из 25 больных получили терапию, частично отличающуюся от первоначально запланированной: 4 ребенка – 2 блока CLAE вместо CLAI и CLAE, 1 пациент в первой консолидации получил монотерапию 2-Cda вместо блока CLAI и

еще 1 больной после первой консолидации CLAI – ТГСК. Все отклонения от протокольной терапии были связаны с избыточно длительным периодом восстановления гемопоэза и тяжелыми инфекционными осложнениями в период нейтропении.

Пять (20%) пациентов в первой ПР (ПР1) после курса CLAE получили ТГСК от родственного донора, 18 (72%) – заключительный блок АМЕ-Н. Один (4%) больной после проведения индукции ремиссии АДЕ-НАМ и консолидации CLAI был потерян из-под наблюдения.

У 12 (48%) пациентов развился рецидив ОМЛ; у 6 детей – ранний (< 1 года от достижения ПР1) и у 6 – поздний (> 1 года от достижения ПР1). Среди пациентов, не получивших ТГСК и закончивших всю протокольную терапию, вероятность рецидива составила 56% (10 из 18 пациентов), среди получивших ТГСК рецидивировал только 1 (20%) из 5 больных (ввиду малой выборки пациентов данные статистически недостоверны). Десятилетняя БСВ составила 0,47%.

Из 10 рецидивировавших пациентов, не получивших ТГСК в ПР1, вторая ПР (ПР2) достигнута у 9 (90%) детей. ТГСК проведена 9 пациентам (2 – неродственные, 5 – гаплоидентичные от родителей, 2 – родственные от сиблингов).

На рисунке 2 представлены графики выживаемости в группе пациентов, получивших 2-Сда в консолидирующей терапии. В качестве сравнения случайно выбрана группа детей, получивших лечение по протоколу ОМЛ-ММ-2006 для промежуточной группы риска, так как именно к ней была отнесена ветвь терапии с кладрибином. Сравнительный анализ показал схожие результаты выживаемости, в том числе по медиане продолжительности ремиссии, количеству рецидивов. Отличительно для общей группы отмечено появление пациентов с первично-рефрактерными формами течения заболевания, а также случаи смерти до ремиссии и в ПР1.

Дополнительно для наглядности результаты терапии представлены на рисунке 2 и в таблице 3.

Анализ летальности

Из 25 детей, включенных в исследование, умерли 4 (16%). Двое погибли в активном статусе заболевания от прогрессии, не достигнув ПР2, 1 – в ПР3 от инфекционных осложнений после второй ТГСК и еще 1 – от прогрессии заболевания в 3-м рецидиве.

Общие результаты лечения

Всего среди исследуемой группы больных в настоящее время жив 21 (84 %) ребенок, из них в ПР1 – 12 (48%), в ПР2 – 8 (32%), в ПР3 – 1 (4%). Один больной потерян из-под наблюдения в ПР1 сразу после проведения 1 консолидации.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Стандартные схемы лечения ОМЛ, включающие в себя высокие дозы Ага-С и антрациклинов, применяемые на протяжении многих лет, несомненно, доказали свою эффективность. Тем не менее прогресс в лечении ОМЛ в последние 20 лет связан исключительно с улучшением результатов терапии спасения пациентов с рефрактерными ОМЛ и с рецидивами заболевания, т. е. с совершенствованием технологии ТГСК, а не собственно химиотерапии.

Что касается кладрибина, то, согласно приведенным данным, добавление препарата к высоким дозам Ага-С в консолидации ремиссии у группы больных с t(9;11), а также вариантом М5 без дополнительных молекулярно-генетических факторов, стратифицирующих в другую группу риска, не показало значимого эффекта в отношении снижения риска рецидива, который составил 56% среди пациентов в ПР1, не получивших ТГСК, что является слишком высоким показателем. Такая вероятность развития рецидива позволяет утверждать, что кладрибин не оказывает дополнительного терапев-

Таблица 3

Сводные результаты терапии исследуемой группы пациентов, получивших кладрибин ($n = 25$) в сравнении с остальной когортой из промежуточной группы риска ($n = 83$)

Table 3

Summary of the treatment results of the study group who received cladribine ($n = 25$) in comparison with the rest of the cohort of patients from the intermediate risk group ($n = 83$)

Результаты терапии Treatment results	Терапия Treatment		p
	с кладрибином ($n = 25$) with cladribine ($n = 25$)	без кладрибина ($n = 83$) without cladribine ($n = 83$)	
Смерть до ремиссии Death before remission	0/25 (0%)	3/83 (3,6%)	0,34
Ремиссия после АДЕ-НАМ (ПР1) Remission after ADE-HAM (first complete remission)	25/25 (100%)	68/83 (82%)	0,03
Смерть в ПР1 Death in first complete remission	0/25 (0%)	3/83 (3,6%)	0,34
Медиана ПР1, мес The median duration of first complete remission, months	35,2 (0,16–135,33)	39,2 (2,4–126,9)	0,92
Рецидивы после АМЕ-Н Relapses after AME-H	10/18 (56%)	20/58 (34,5%)	0,11
ПР2 Second complete remission	10/12 (83,3%)	18/20 (90%)	0,58
Медиана развития рецидива, мес The median relapse duration, months	13,9 (5,4–19,2)	11,7 (3,5–37,3)	0,87
БСВ Event-free survival	0,47 ± 0,1	0,52 ± 0,06	0,96
БРВ Relapse-free survival	0,51 ± 0,1	0,63 ± 0,06	0,46
ОВ Overall survival	0,82 ± 0,08	0,75 ± 0,05	0,47

Рисунок 2

Схема терапии у исследуемой группы пациентов ($n = 25$)

Figure 2

Therapy scheme in the study group of patients ($n = 25$)

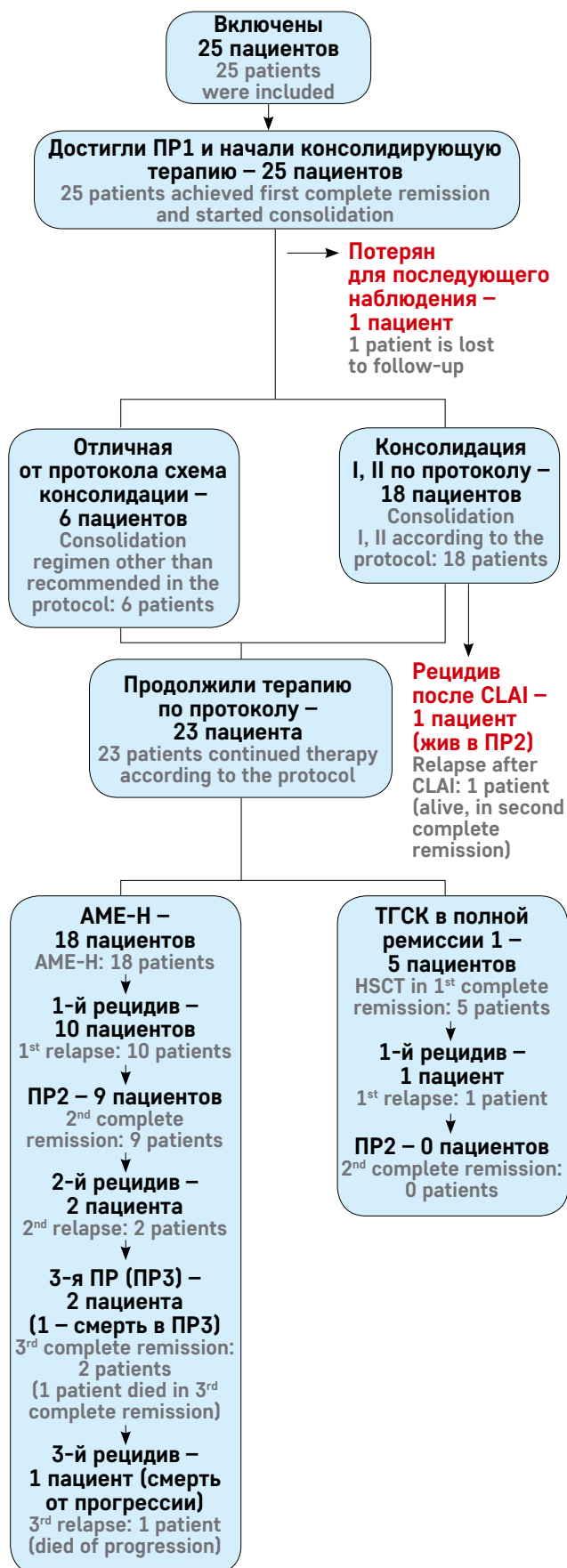
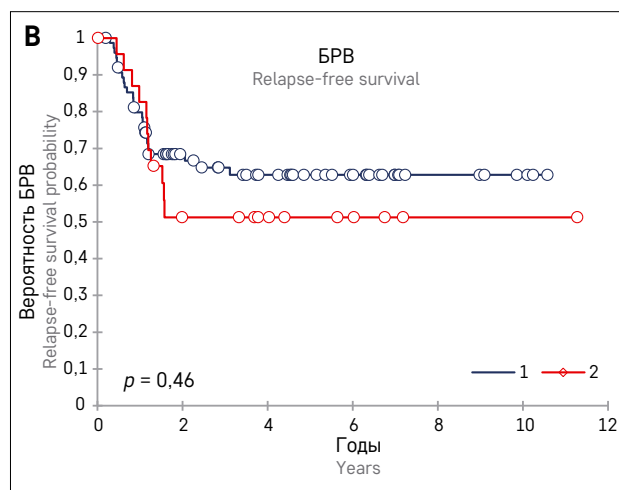
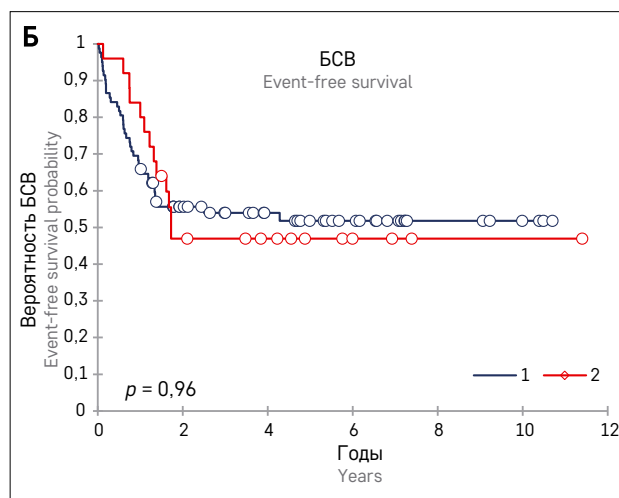
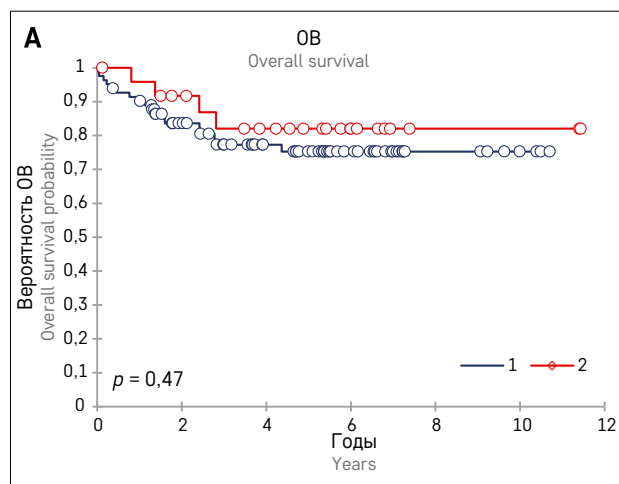


Рисунок 3

Сравнение показателей выживаемости пациентов промежуточной группы риска, не получавших кладрибин ($n = 83$) (1) и больных исследуемой группы, получивших кладрибин ($n = 25$) (2): 1 – ОВ: $0,75 \pm 0,05$, БСВ: $0,52 \pm 0,06$, БРВ: $0,63 \pm 0,06$; 2 – ОВ: $0,82 \pm 0,08$, БСВ: $0,47 \pm 0,1$, БРВ: $0,51 \pm 0,1$

Figure 3

Comparison of survival rates of patients in the intermediate risk group who did not receive cladribine ($n = 83$) (1) and patients in the study group who received cladribine ($n = 25$) (2). 1 – overall survival: 0.75 ± 0.05 , event-free survival: 0.52 ± 0.06 , relapse-free survival: 0.63 ± 0.06 ; 2 – overall survival: 0.82 ± 0.08 , event-free survival: 0.47 ± 0.1 , relapse-free survival: 0.51 ± 0.1



тического эффекта в данной когорте пациентов. Вероятность БСВ составила 0,47, что не уступает, но и не превосходит аналогичный показатель у всей когорты пациентов промежуточной группы риска. Следует отметить, что аналогичные исследования по использованию кладрибина, проводимые в том числе в госпитале St. Jude, включали, только пациентов с M5 + t(9;11).

Также большинство пациентов, которые развили рецидив ОМЛ, достигли повторной ремиссии после проведения терапии «спасения» – 83,3%, и живы – 75% после проведения ТГСК в ПР2, это указывает на то, что при сохранении столь же приемлемой токсичности процедуры ТГСК больные данной группы являются кандидатами на проведение ТГСК в ПР1.

В целом складывается впечатление, что дальнейшее использование кладрибина в составе терапии консолидации ОМЛ не оказывает значимого влияния на вероятность рецидива и, следовательно, не имеет смысла.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Потенциал стандартной химиотерапии ОМЛ можно считать полностью исчерпанным. При этом

история промиелоцитарного лейкоза, при котором применение АТРА и триоксида мышьяка, специфически влияющих на механизмы лейкемогенеза при данной форме ОМЛ, совершило настоящую революцию в результатах лечения, формирует понимание того, какой может и должна быть парадигма терапии ОМЛ в ближайшем будущем.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Venyov D.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0183-1530>

Kalinina I.I. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0813-5626>

Matveev V.E. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8709-5238>

Evseev D.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8610-0624>

Petrova U.N. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1258-8281>

Antonova K.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6001-2746>

Salimova T.Yu. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2958-1705>

Baidildina D.D. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7130-8596>

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

Maschan M.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1735-0093>

Maschan A.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0016-6698>

Литература

- Jeffrey E. Rubnitz. Current Management of Childhood Acute Myeloid Leukemia. *Paediatr Drugs* 2017; 19 (1): 1–10.
- Barovskaya Y.A., Stegantseva M.V., Aleinikova O.V. Clinical and biological features of acute myeloid leukemia with MLL gene rearrangements in children and results of therapy according to protocols AML-MM-2000/2006 in the Republic of Belarus. *Oncohematology* 2018; 13 (4): 8–16.
- Döhner H., Weisdorf D.J., Bloomfield C.D. Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* 2015; 373 (12): 1136–52. DOI: 10.1056/NEJMra1406184
- Qasrawi A., Bahaj W., Qasrawi L., Abughanimeh O., Foxworth J., Gaur R. Cladribine in the remission induction of adult acute myeloid leukemia: where do we stand? *Ann Hematol* 2019; 98 (3): 561–79.
- Petzer A.L., Bilgeri R., Zilian U., Haun M., Geisen F.H., Pragnell I., et al. Inhibitory effect of 2-chlorodeoxyadenosine on granulocytic, erythroid, and T-lymphocytic colony growth. *Blood* 1991; 78: 2583–7.
- Carrera C.J., Piro L.D., Saven A., Beutler E., Terai C., Carson D.A., et al. 2-chloro-deoxyadenosine chemotherapy triggers programmed cell death in normal and malignant lymphocytes. *Adv Exp Med Biol* 1991; 309A: 15–8.
- Gandhi V., Plunkett W. Modulation of arabinosylnucleoside metabolism by arabinosylnucleotides in human leukemia cells. *Cancer Res* 1988; 48: 329–34.
- Gandhi V., Estey E., Keating M.J., Plunkett W. Fludarabine potentiates metabolism of cytarabine in patients with acute myelogenous leukemia during therapy. *J Clin Oncol* 1993; 11: 116–24.
- Freyer C.W., Gupta N., Wetzler M., Wang E.S. Revisiting the role of cladribine in acute myeloid leukemia: an improvement on past accomplishments or more old news? *Am J Hematol* 2015; 90 (1): 62–72.
- Rubnitz J.E., Crews K.R., Pounds S., Yang S., Campana D., Gandhi V.V., et al. Combination of cladribine and cytarabine is effective for childhood acute myeloid leukemia: results of the St Jude AML97 trial. *Leukemia* 2009; 23: 1410–6.
- Rubnitz J.E., Raimondi S.C., Tong X., Srivastava D.K., Razzouk B.I., Shurtleff S.A., et al. Favorable impact of the t(9;11) in childhood acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2002; 20: 2302–9.
- Carson D.A., Wasson D.B., Beutler E. Antileukemic and immunosuppressive activity of 2-chloro-2'-deoxyadenosine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 2232–6.
- Holowiecki J., Grosicki S., Giebel S., Kyrz-Krzemien S., Giebel S., Hellmann A., et al. Cladribine, but not fludarabine, added to daunorubicin and cytarabine during induction prolong survival of patients with acute myeloid leukemia: A multicenter, randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2441–2448.
- Park H., Youk J., Kim I., Yoon S.-S., Park S., Lee J.-O., et al. Comparison of cladribine- and fludarabine-based induction chemotherapy in relapsed or refractory acute myeloid leukaemia. *Ann Hematol* 2016; 95 (11): 1777–86.
- De Moerloose B., Reedijk A., de Bock G.H., Lammens T., de Haas V., Denys B., et al. Response-guided chemotherapy for pediatric acute myeloid leukemia without hematopoietic stem cell transplantation in first complete remission: Results from protocol DB AML-01. *Pediatr Blood Cancer* 2019; 66 (5): e27605. DOI: 10.1002/pbc.27605

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 15.01.2021
Принята к печати 02.02.2021

Контактная информация:

Михайлова Екатерина Валерьевна,
врач клинической лабораторной
диагностики лаборатории
иммунофенотипирования гемобластозов
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия
Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: katmikhailova1805@gmail.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-46-53

Иммунофенотипическая характеристика острого миелоидного лейкоза с *inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFβ-MYH11* у детей

Е.В. Михайлова, С.А. Кашпор, Е.А. Зеркаленкова, А.А. Семченкова, М.Э. Дубровина,
Ю.В. Олшанская, С.А. Плясунова, И.И. Калинина, М.А. Масчан, А.А. Масчан,
Г.А. Новичкова, А.М. Попов

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

Целью данной работы было изучение иммунофенотипа клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) с *inv(16)(p13.1q22)/CBFβ-MYH11* и *t(16;16)(p13.1;q22)/CBFβ-MYH11* у детей. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Проанализированы образцы костного мозга 36 детей с впервые выявленным ОМЛ с *inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFβ-MYH11*. Была выявлена крайняя гетерогенность иммунофенотипа опухолевых клеток: экспрессировались как антигены ранних стадий дифференцировки (CD34, CD117, CD123), так и маркеры зрелых моноцитов (CD11c, CD14, CD64) и нейтрофилов (CD65, CD15). При этом в 55,6% случаев была отмечена коэкспрессия маркеров других линий дифференцировки, наиболее частым из которых был лимфоидный антиген CD2. В 83,3% исследуемых образцов отмечалось разделение популяции на 2 части: более «незрелую» – миелобластную, экспрессирующую ранние маркеры дифференцировки (CD34, CD117), и более «дифференцированную» – несущую на своей поверхности маркеры зрелых моноцитов (CD11b, CD14, CD33). При этом четкой границы между данными частями провести невозможно. Несмотря на то, что моноцитарная часть опухолевой популяции иммунофенотипически схожа с нормальными моноцитами, в 87,5% случаев ОМЛ с *CBFβ-MYH11* отмечалось наличие коэкспрессии тех же маркеров лимфоидной дифференцировки, что и на опухолевых миелобластах. Кроме того, было показано, что в лейкоэмических моноцитах детектируется химерный транскрипт *CBFβ-MYH11* на уровне, сопоставимом с таковым в лейкоэмических бластах. Наличие данных особенностей у моноцитов позволяет считать их частью опухолевой популяции и учитывать их иммунофенотип при описании суммарного иммунофенотипа опухоли при ОМЛ.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз, дети, ген *CBFβ-MYH11*, иммунофенотипирование

Михайлова Е.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 46–53. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-46-53

Immunophenotypic characterization of pediatric acute myeloid leukemia with *inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFβ-MYH11*

E.V. Mikhailova, S.A. Kashpor, E.A. Zerkalnikova, A.A. Semchenkova, M.E. Dubrovina, S.A. Plyasunova,
Yu.V. Olshanskaya, I.I. Kalinina, M.A. Maschan, A.A. Maschan, G.A. Novichkova, A.M. Popov

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

The aim of this study was to describe the immunophenotype of leukemic cells in acute myeloid leukemia (AML) with *inv(16)(p13.1q22)/CBFβ-MYH11* and *t(16;16)(p13.1;q22)/CBFβ-MYH11* in children. 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. We investigated bone marrow samples from 36 pediatric patients with initially diagnosed AML with *inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFβ-MYH11*. Immunophenotypic profile of leukemic cells was very heterogeneous: cells expressed antigens of early stages of differentiation (CD34, CD117, CD123) as well as markers of mature monocytes (CD11c, CD14, CD64) and neutrophils (CD65, CD15). Moreover, in 55.6% of cases lymphoid coexpressions were noticed (CD2 – the most frequent one). Furthermore, in 83.3% of cases we detected the separation of leukemic cells population into two parts: more "immature" – myeloblastic, which expressed early markers of differentiation (CD34, CD117), and more "mature" part, expressing monocytic antigens (CD11b, CD14, CD33). There was no clear separation between these parts of population. Despite the immunophenotypic similarity between monocytic part of leukemic population and normal monocytes, in 87.5% of studied cases there were same lymphoid coexpressions on these cells as on leukemic myeloblasts. Moreover, we showed that levels of *CBFβ-MYH11* expression in leukemic monocytes and myeloblasts were comparable. Presence of these characteristics in monocytes allows to consider them as part of leukemic cells population and take into consideration during the total immunophenotype reporting.

Key words: acute myeloid leukemia, children, *CBFβ-MYH11* gene, immunophenotyping

Mikhailova E.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 46–53.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-46-53

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPOH»

Received 15.01.2021
Accepted 02.02.2021

Correspondence:

Ekaterina V. Mikhailova,
MD, Leukemia Immunophenotyping
laboratory of Dmitry Rogachev National
Medical Research Center of Pediatric
Hematology, Oncology and Immunology,
Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: katmikhailova1805@gmail.com

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) является гетерогенной группой онкогематологических заболеваний с разными морфологическими, иммунофенотипическими и генетическими особенностями [1]. В классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2016 г. основным критерием выделения специфических подгрупп ОМЛ являются цитогенетические и молекулярно-генетические характеристики опухолевых клеток [2]. Одной из таких подгрупп является ОМЛ с *inv(16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11* или *t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11*. Данные хромосомные аномалии приводят к слиянию N-конца и большей части гена β -субъединицы белка CBF (core binding factor) с C-концевой частью гена тяжелой цепи гладкомышечного миозина [3]. Этот тип ОМЛ чаще всего морфологически характеризуется как миеломоноцитарный с эозинофилией [4]. Наличие химерного гена *CBFB-MYH11* выявляется у 5–8% пациентов с ОМЛ [5] и при проведении интенсивной химиотерапии, ключевым компонентом которой является включение нескольких курсов терапии высокими дозами цитарабина (HD AraC), сопряжено с относительно благоприятным прогнозом исхода заболевания [6].

Учитывая доминирующее значение цитогенетических и молекулярно-генетических методов в диагностике и прогнозировании исхода ОМЛ, иммунофенотипирование опухолевой популяции клеток с помощью многоцветной проточной цитометрии расценивается в целом как вспомогательный метод в диагностической «панели» ОМЛ. В то же время характер экспрессии тех или иных цитоплазматических и поверхностных маркеров в клетках является отражением молекулярно-генетических процессов внутри них. В связи с чем поиск возможной взаимосвязи иммунофенотипа опухолевых клеток с их цитогенетическими и молекулярно-генетическими особенностями и соответственно с прогнозом является одной из важных диагностических задач.

Цель настоящего исследования: изучить особенности иммунофенотипа опухолевых клеток у детей с ОМЛ с *inv(16)(p13.1;q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Были исследованы образцы костного мозга (КМ) 36 детей в возрасте от 1 года до 18 лет с впервые выявленным ОМЛ с *inv(16)(p13.1;q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11*, проходивших инициальное диагностическое исследование при острых лейкозах в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ

им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России с марта 2012 г. по май 2020 г.

Иммунофенотипирование

Иммунофенотипирование опухолевой популяции производили на цитометрах FACS Canto II (3 лазера, 8 цветов; Becton Dickinson, США) и Navios (3 лазера, 10 цветов; Beckman Coulter, США). Панель для определения иммунофенотипа опухолевой популяции содержала меченные флуорохромами антитела, указанные в таблице 1. В качестве количественной характеристики экспрессии маркеров был выбран процент позитивных по отдельным маркерам опухолевых клеток, а также средняя интенсивность флуоресценции (MFI), которую рассчитывали в образцах, окрашенных с использованием стандартных готовых панелей меченных антител DURAClone Tube (Beckman Coulter, США) (таблица 2). Данные комбинации антител разработаны для определения минимальной остаточной болезни в процессе терапии ОМЛ [7].

Результаты иммунофенотипирования оценивали с использованием программного обеспечения Kaluza 2.1 (Beckman Coulter, США). В анализ включали не менее 10 000 ядросодержащих клеток. Выделение опухолевых клеток на точечных графиках производили по экспрессии маркера CD45 и значениям параметра бокового светорассеяния (SSC). Опухолевую популяцию считали позитивной, если 20% и более опухолевых клеток экспрессировали мембранный маркер или 10% – внутриклеточный [8].

Клеточная сортировка

У 2 пациентов было произведено выделение отдельных популяций клеток с использованием проточного клеточного сортера (FACS Aria III, BD, США): выделены миелоидные бласты

Таблица 1
Перечень антител, использованных в исследовании

Table 1
List of used antibodies

Флуорохромы Fluorochromes	Моноклональные антитела Monoclonal antibodies
FITC	CD56, CD66b, Lys, CD4, CD61, CD38, CD15, CD34, CD4
PE	CD117, NG2, MPO, CD11a, CD99, CD371, CD2, CD7, CD19, CD13, HLA-DR, CD123, CD65
PerCP/ PerCP-Cy5.5	CD7, CD14, CD3, HLA-DR, CD123, CD22, CD14, CD117, CD45
PE-Cy7	CD19, CD11b, CD22, CD64, CD41a, CD33, CD3, CD11b, CD5
APC	CD34, CD2, CD303, CD99, CD371, CD13, CD79a, CD11c, CD5, CD7, CD19, CD56
APC-Cy7/APC-Alexa 750	CD45, CD45RA, CD11b, CD3
Pacific Blue/BV421	CD33, CD13, CD79a, CD5, HLA-DR, CD10, CD235a, CD2, CD7, CD13
Krome Orange/BV510	CD3, CD11c, CD15, CD203c, CD45, CD3, CD4, CD11b
ECD	CD34, CD56
APC-Alexa 700	CD123, CD14, CD4

Таблица 2

Состав стандартных готовых панелей меченных моноклональных антител DURAClone Tube (Beckman Coulter, США)

Table 2

Composition of standardized DURAClone Tubes (Beckman Coulter, USA)

Pacific Blue	Krome Orange	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	APC-AF700	APC-AF750
Пробирка 1 Tube 1									
HLA-DR (Immu-357)	CD45 (J33)	CD15 (80H5)	–	CD34 (581)	CD117 (104D2D1)	CD33 (D3HL60.251)	–	CD14 (RM052)	CD11b (Bear1)
Пробирка 2 Tube 2									
HLA-DR (Immu-357)	CD45 (J33)	CD38 (T16)	–	CD34 (581)	CD117 (104D2D1)	CD33 (D2HL60.251)	–	CD123 (SSDCLY107D2)	CD45RA (2H4LDH11LDB9 (2H4))

(CD45⁺CD117⁺CD33⁺CD14⁺) и моноцитарные клетки (CD45⁺CD33⁺CD117⁺CD14⁺). Нефиксированные окрашенные антителами клетки сортировали в режиме “Purity” в фосфатно-солевой буфер (Cell Wash, BD, США). Полученные клеточные осадки использовались для дальнейшего определения экспрессии химерного транскрипта *CBFB-MYH11* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени.

Цитогенетическое и молекулярно-генетическое исследования

Всем пациентам было выполнено стандартное кариотипирование методом G-banding [9]. Описание кариотипа осуществляли в соответствии с Международной цитогенетической номенклатурой [10]. Для подтверждения наличия *inv(16)(p13;q22)* либо *t(16;16)(p13;q22)* проводили флуоресцентную гибридизацию *in situ* с зондом на разрыв гена *CBFB* (Kreatech *CBFB* Break Apart probe, Leica Microsystems B.V., Нидерланды) согласно инструкции производителя.

Тотальную ДНК и РНК одновременно выделяли из сортированных клеточных популяций или 5 млн мононуклеаров нативного КМ с помощью набора InnuPrep DNA/RNA Mini Kit (Analytik Jena AG, ФРГ). Далее осуществляли синтез комплементарной ДНК из РНК обратной транскриптазой Mint (ЗАО Евроген, Россия) и проводили ПЦР в режиме реального времени с применением мультиплексной системы праймеров и TaqMan-пробы для 3 наиболее распространенных вариантов химерного транскрипта *CBFB-MYH11* [11]. Качество РНК определяли по экспрессии контрольного транскрипта *ABL* [11].

Количество химерного транскрипта *CBFB-MYH11* и контрольного транскрипта *ABL* определяли как число копий в реакции по калибровочным графикам, построенным с помощью стандартов Ipsogen (Qiagen, ФРГ). Экспрессию химерного транскрипта *CBFB-MYH11* представляли в виде нормализованного числа копий, т. е. отношения числа копий исследуемого транскрипта к числу копий контрольного транскрипта в реакции.

Статистический анализ

Сравнение величины MFI проводили с использованием критерия Манна–Уитни. Результаты статистической обработки данных считались достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

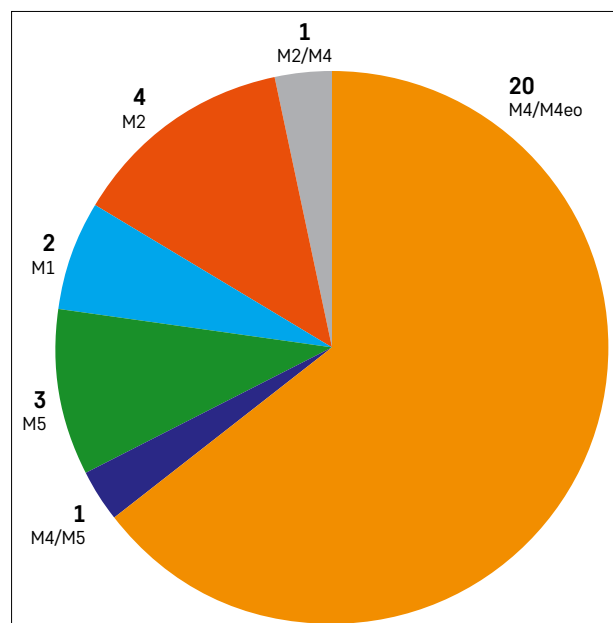
На основании данных кариотипирования, FISH и ОТ-ПЦР за указанный период времени нами были выявлены 36 пациентов с *CBFB-MYH11*. Перестройка гена *CBFB* была подтверждена ОТ-ПЦР во всех случаях.

Результаты цитоморфологического исследования КМ были доступны у 31 (86,1%) из 36 пациентов (рисунки 1). Наиболее частым цитологическим вариантом ОМЛ (по FAB-классификации) у пациентов с *inv(16)(p13.1q22)/CBFB-MYH11* был М4 – у 20 (64,5%) из 31 пациента, при этом у 7 из них была отмечена

Рисунок 1

Распределение цитоморфологических вариантов ОМЛ с *inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11* согласно FAB-классификации

Figure 1
Distribution of cytomorphological types in AML with *inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11* according to FAB-classification.



эозинофилия (M4eo). Кроме того, были выявлены 4 (12,9%) случая M2, 3 (9,7%) – M5 и 2 (6,5%) – M1. Еще в 2 (6,5%) случаях однозначно установить морфологический вариант ОМЛ по FAB-классификации не удалось – результаты исследований были интерпретированы как M2/M4 и M4/M5.

Иммунофенотипические особенности ОМЛ с *inv(16)(p13.1q22)/CBFB-MYH11* отображены на рисунке 2. В большинстве случаев клетки опухолевой популяции при данном типе ОМЛ тотально экспрессируют CD45, CD11a, CD13, CD33. При этом процент клеток, экспрессирующих остальные исследуемые маркеры, при ОМЛ с *inv(16)(p13.1q22)/CBFB-MYH11* гетерогенен и меняется от пациента к пациенту в широком диапазоне значений: клетки могут экспрессировать как антигены ранних стадий дифференцировки (CD34, CD117, CD123), так и маркеры зрелых моноцитов (CD11c, CD14, CD64) и нейтрофилов (CD65, CD15). Во всех исследуемых образцах клетки данного типа лейкоза не экспрессировали маркеры мегакариоцитарной линии дифференцировки (CD41a, CD61), эритроидный маркер CD235a. Лишь у 2 из 7 пациентов с морфологическим вариантом ОМЛ M4eo удалось и при помощи метода проточной цитометрии детектировать повышение относительного количества эозинофилов более 6%.

Маркеры других линий дифференцировки на опухолевых клетках выявлялись в 20 (55,6%) из 36 случаев. Чаще всего встречалась коэкспрессия лимфоидного антигена CD2 – из 30 пациентов, у которых экспрессия данного маркера определялась, у 15 (50,0%) он был выявлен на опухолевых клетках (рисунк 3). Помимо ОМЛ с CD2 были выявлены случаи ОМЛ с коэкспрессией CD7 (3/36; 8,3%), CD19 (2/36; 5,6%), а также NG2 (2/34; 5,9%). Также у 2 пациентов было отмечено наличие коэкспрессии одновременно 2 маркеров – CD2/CD7 и CD2/NG2.

Следует отметить, что у 6 пациентов из исследуемой когорты в КМ выявлялась 1 гомогенная по иммунофенотипу опухолевая популяция, представленная лейкоэмическими миелобластами, ярко экспрессирующими ранние маркеры дифференцировки (CD117, CD34) и имеющими сниженный уровень экспрессии CD45. При этом в 30 из 36 случаев иммунофенотипически отмечалось относительное разделение опухолевой популяции на 2 части (рисунк 4). Первая из них была представлена миелобластами с тем же иммунофенотипом, что и у 6 пациентов с единственной опухолевой популяцией. Данная часть клеток составляла от 14 до 84% всей опухолевой популяции у пациентов с 2 опухолевыми популяциями. Вторая часть представлена клетками с более зрелым иммунофенотипом: они не имеют маркеров ранних стадий дифференцировки, демонстрируют более высокий в сравнении с миелобластной частью

уровень экспрессии CD45, при этом несут на своей поверхности моноцитарные маркеры (CD11b, CD14, CD33). Кроме того, данные клетки имеют то же расположение на графике CD45/SSC (рисунк 4), что и нормальные моноциты в КМ [12]. Миелобластная и моноцитарная части опухолевой популяции при ОМЛ с *inv(16)(p13.1q22)/CBFB-MYH11* имеют существенные иммунофенотипические различия: при сравнении величины MFI по 11 антигенам значимые различия были выявлены для 9 из них за исключением HLA-DR и CD38, экспрессия которых была крайне гетеро-

Рисунок 2

Экспрессия антигенов опухолевыми клетками при ОМЛ с *inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11*

Figure 2

Antigen expression by leukemic cells in AML with *inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11*

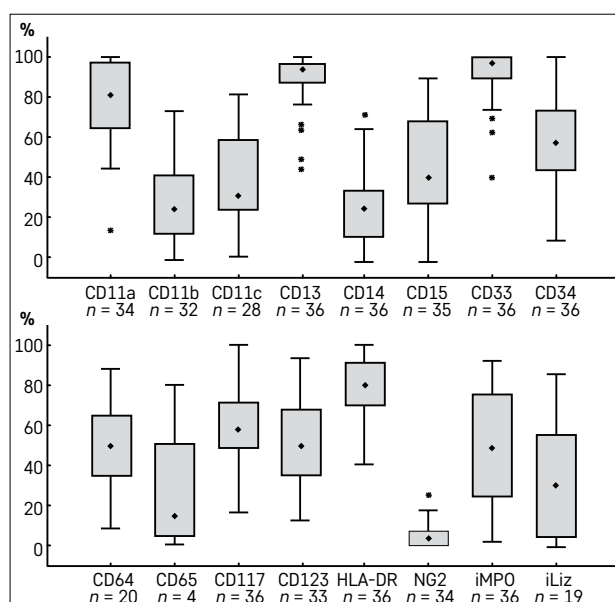
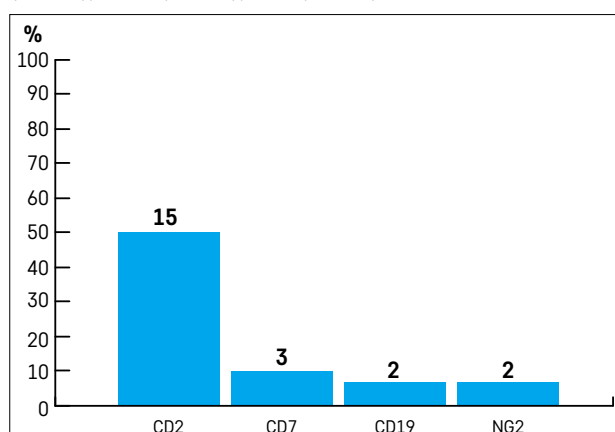


Рисунок 3

Процентное соотношение случаев ОМЛ с *inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11* с коэкспрессией маркеров других линий дифференцировки: CD2 ($n = 30$), CD7 ($n = 36$), CD19 ($n = 36$), NG2 ($n = 34$)

Figure 3

Percentage of cases with AML with *inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11* with coexpression of other lineages markers: CD2 ($n = 30$), CD7 ($n = 36$), CD19 ($n = 36$), NG2 ($n = 34$)



генна на клетках обеих популяций (рисунок 5). При этом чаще всего между 2 данными популяциями на точечных графиках нет четкой границы (рисунок 4).

Рисунок 4

Пример иммунофенотипической гетерогенности опухолевой популяции при ОМЛ с *inv(16)(p13.1;q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11*; красным цветом отображены опухолевые миелобласты, черным – опухолевые моноцитарные клетки, серым – остальные ядросодержащие клетки

Figure 4

Example of leukemic cells immunophenotypic heterogeneity in AML with *inv(16)(p13.1;q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11*; red – leukemic myeloblasts, black – leukemic monocytes, grey – other nucleated cells

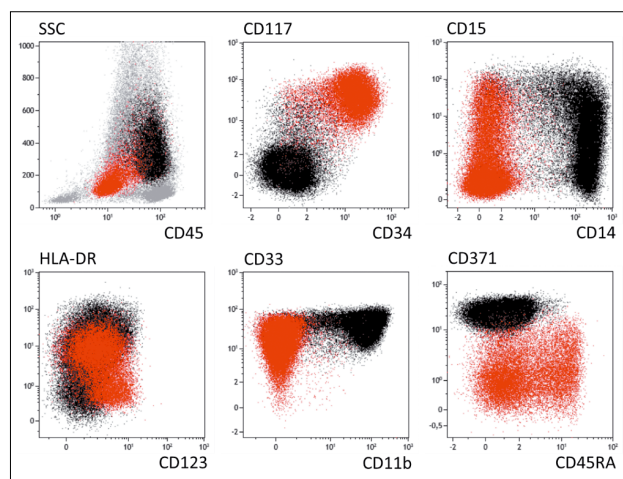
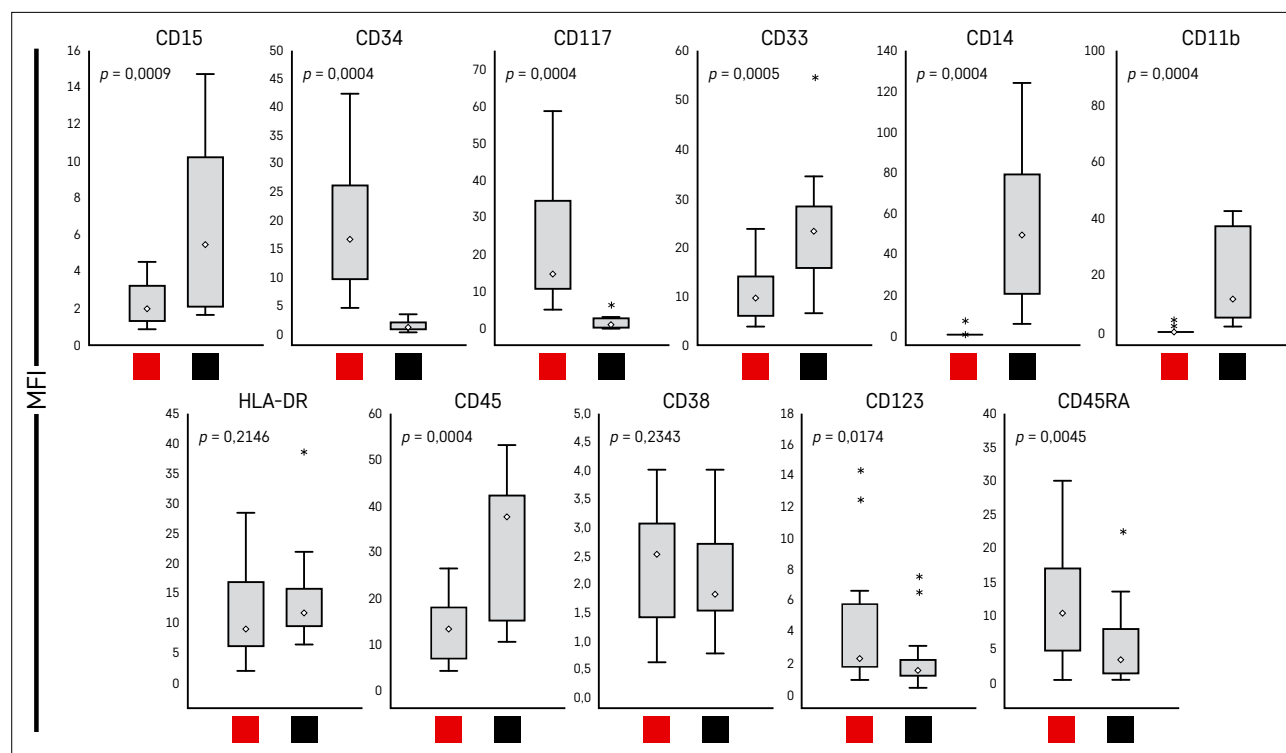


Рисунок 5

Сравнение экспрессии антигенов между миелобластной (красный цвет) и моноцитарной (черный цвет) популяциями опухолевых клеток при ОМЛ с *inv(16)(p13.1;q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11* ◊ – медиана; □ – межквартильный интервал; I – интервал максимум-минимум без учета выбросов; * – выбросы

Figure 5

Comparison of diagnostic markers expression between myeloblastic (red) and monocytic (black) parts of leukemic population in AML with *inv(16)(p13.1;q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11* ◊ – median, □ – interquartile range, I – maximum-minimum range without outliers; * – outliers



Несмотря на иммунофенотипическую схожесть с нормальными моноцитами, «зрелая» популяция опухолевых клеток при ОМЛ с *inv(16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11* в 14 из 16 случаев коэкспрессировала те же маркеры других линий дифференцировки, что и опухолевые миелобласты. Кроме того, при исследовании сортированных популяций клеток 2 пациентов было установлено, что в моноцитарной части опухолевой популяции ($CD45^+CD33^+CD117^-CD14^+$) уровень экспрессии химерного транскрипта *inv(16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11* совпадал по величине с тем, что наблюдался в лейкоэмических бластах ($CD45^+CD117^+CD33^+CD14^-$) (рисунок 6).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В нашем исследовании преобладающим цитоморфологическим вариантом при ОМЛ с *inv(16)(p13.1;q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11* являлся острый миеломоноцитарный лейкоз (М4) (64,5%), в 35% случаев – с эозинофилией. В более ранних работах по изучению клеток ОМЛ также показано, что М4-вариант наиболее часто встречается при ОМЛ данной цитогенетической подгруппы [4, 13, 14].

В 46,7% случаев клетки ОМЛ с *inv(16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11* коэкспрессировали маркер Т-лим-

фоцитов CD2. Данную особенность этого цитогенетического варианта лейкоза отмечали в других исследованиях [4, 15, 16], причем наличие на мембране опухолевых клеток CD2 в сочетании с *inv(16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11* является фактором хорошего прогноза лечения [16, 17], в то время как

экспрессия CD2 при других ОМЛ имеет неблагоприятное прогностическое значение [17]. Помимо CD2 в нескольких случаях выявлялись другие коэкспрессируемые антигены: CD19, CD7 и даже NG2, который является высокоспецифичным маркером для острого лейкоза с перестройками в гене *KMT2A* [18, 19]. При

Рисунок 6

Результаты ОТ-ПЦР в режиме реального времени для выявления химерного транскрипта *CBFB-MYH11* (синий цвет) и контрольного транскрипта *ABL* (зеленый цвет) в отсортированных моноцитарной ($CD45^+CD33^+CD117^-CD14^+$) и бластной ($CD45^+CD117^+CD33^+CD14^-$) частях опухолевой популяции. Величина нормализованного числа копий *CBFB-MYH11* составила 218,69% и 112,86% соответственно

Figure 6

Real time qPCR results of chimeric transcript *CBFB-MYH11* detection (blue) and control transcript *ABL* (green) in sorted monocytic ($CD45^+CD33^+CD117^-CD14^+$) and myeloblastic ($CD45^+CD117^+CD33^+CD14^-$) leukemic subpopulations. The value of normalized number of copies was 218.69% and 112.86% respectively

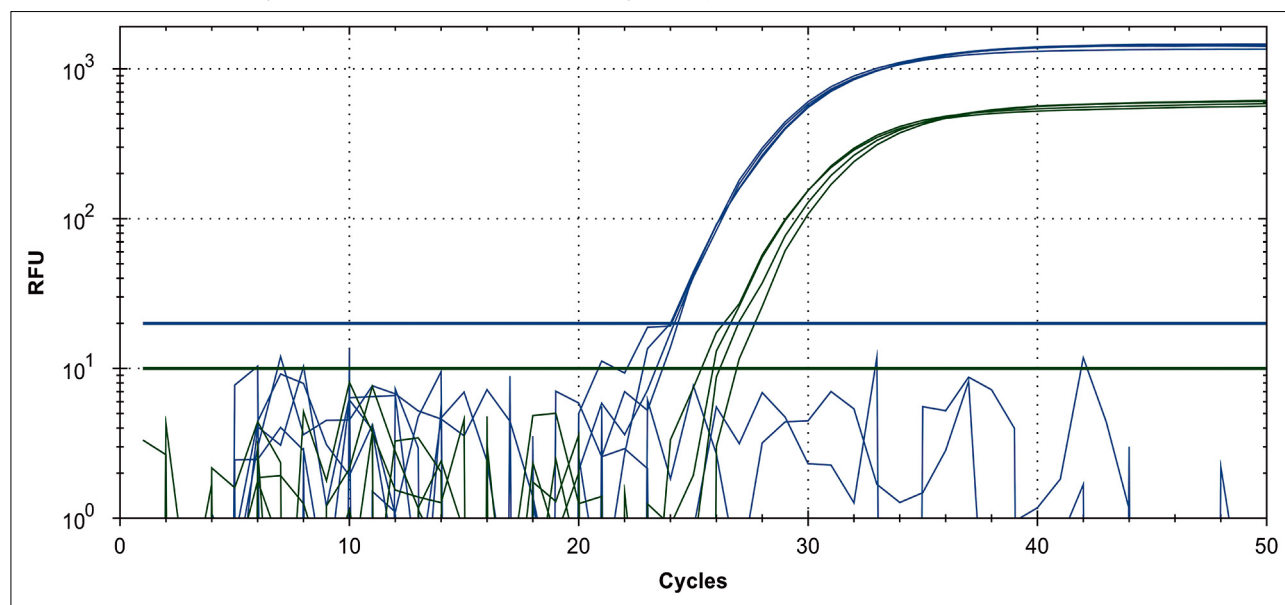


Рисунок 7

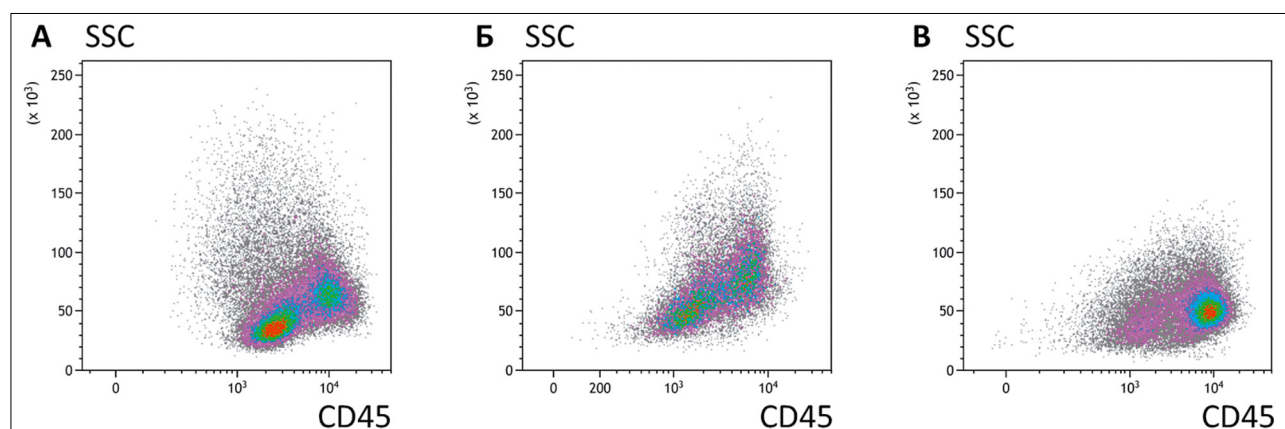
Примеры распределения клеток, демонстрирующие различные варианты соотношения величины миелобластной и моноцитарной частей опухолевой популяции у пациентов при ОМЛ с *inv(16)(p13.1;q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11*

На точечных графиках отображена только опухолевая популяция; миелобластная часть имеет меньший уровень экспрессии CD45 и более низкий показатель SSC по сравнению с моноцитарной. А – опухолевые миелобласты количественно преобладают над моноцитами; Б – количество миелобластов и моноцитов приблизительно одинаковое; В – опухолевые моноциты преобладают над миелобластами. Точечные графики построены с учетом плотности распределения клеток, красный цвет отражает максимальное количество клеток, серый – минимальное

Figure 7

Examples of different ratio between myeloblastic and monocytic parts of leukemic population in AML with *inv(16)(p13.1;q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11*

Only leukemic cells population is displayed on the dot plots; myeloblastic part have lower CD45 expression and SSC level than monocytic one. A – size of myeloblastic population is bigger than size of monocytic population; Б – sizes of monocytic and myeloblastic populations are approximately equal; В – size of monocytic population is bigger than size of myeloblastic population. Dot plots are performed in "density" mode: the highest cells concentration is shown in red, while lowest – in grey



этом ранее было установлено, что именно ОМЛ с *inv(16)(p13.1q22)/CBFB-MYH11* является второй по численности среди цитогенетических подгрупп после ОМЛ с перестройками гена *KMT2A* у пациентов с NG2-позитивными ОМЛ как в группе детей в возрасте до 1 года, так и в группе старше 1 года [20].

Антигенный профиль опухолевой популяции при ОМЛ с *inv(16)(p13.1q22)/CBFB-MYH11* отличается крайней гетерогенностью: большинство исследуемых маркеров в каждом отдельном случае экспрессировалось на разном проценте опухолевых клеток. Было отмечено 4 маркера, которые чаще других экспрессировались на более чем половине лейкоэмических клеток – это CD45, CD11a, CD13 и CD33. При этом у 30 (83,3%) из 36 пациентов опухолевая популяция состояла из 2 частей: миелобластной и моноцитарной. Данные части популяции имели существенные различия в интенсивности экспрессии CD45, CD34, CD117, CD33, CD14, CD11b, CD123, CD15, CD45RA, что позволяло отдельно идентифицировать их на точечных графиках. При этом в миелобластной и моноцитарной субпопуляциях детектировался приблизительно одинаковый уровень экспрессии *inv(16)(p13.1q22)/CBFB-MYH11*. Похожие данные получены Н. Adriaansen и соавт. [15]: в своей работе они делают акцент на наличии не только бластной, но и более зрелой моноцитарной популяции в составе опухоли, заметно отличающихся друг от друга по экспрессии ряда маркеров (CD34, CD14, CD33). Также высказывалось мнение, что эозинофилы могут являться частью опухолевой популяции, так как в них обнаруживается химерный ген или транскрипт [21]. Однако, по данным нашего исследования, наличие эозинофилии плохо детектируется при помощи проточной цитометрии (лишь в 1/7 случаев), в результате чего данный метод крайне ограничено применим для изучения и описания аномалий их иммунофенотипа.

В отличие от клеток ОЛЛ опухолевые бласты при ОМЛ сохраняют способность к созреванию [22], что приводит к сложностям при отделении опухолевой популяции на точечных графиках от остальных клеток в КМ и, как следствие, к трудностям в интерпретации результатов цитометрического исследования. Несмотря на то, что изучение иммунофенотипа опухолевых клеток при ОМЛ ведется уже не одно десятилетие, до сих пор не существует единой точки зрения относительно того, следует ли при описании антигенного профиля опухолевой популяции учитывать ее относительно зрелую часть или правильнее ограничиваться описанием лейкоэмических бластов. ОМЛ с *inv(16)(p13.1q22)/CBFB-MYH11* является одним из типов лейкоза, при котором в КМ часто встречается низкое содержание опухолевых клеток-предшественников (< 20%) [23].

При этом именно порог в 20% опухолевых клеток является границей между диагнозом миелодиспластического синдрома и ОМЛ [2]. В нашем исследовании наличие менее 20% лейкоэмических бластов в КМ наблюдалось у 6 (16,7%) из 36 пациентов. Добавление к этому количеству моноцитов, являющихся дериватами опухолевого клона, но морфологически мало отличающихся от нормальных, неопухолевых моноцитов, увеличивало размер лейкоэмической популяции до более чем 40%. Эта принадлежность «зрелых» терминальных клеток к лейкоэмическому клону подтверждает обоснованность «снятия» диагностического порога при патогномичных для ОМЛ генетических аномалиях, каковой является *inv(16)(p13.1q22)/CBFB-MYH11*. Кроме того, на практике результаты иммунофенотипирования чаще всего доступны раньше, чем результаты цитогенетического и молекулярно-генетического исследований, поэтому правильное инициальное определение наличия ОМЛ даже при низком количестве бластов имеет существенное значение для проведения комплексной диагностики. На наш взгляд, в случае гетерогенных ОМЛ при описании иммунофенотипа лейкоэмических клеток следует учитывать моноцитарную популяцию в составе опухолевой. В пользу такого алгоритма анализа цитометрических данных свидетельствуют одинаковые коэкспрессии лимфоидных антигенов и одинаковая экспрессия химерного гена миелобластной и моноцитоидной популяций, а также отсутствие четкой границы между ними на точечных графиках («плавное перетекание» одной популяции в другую). При этом соотношение моноцитарной и миелобластной частей в составе опухолевой популяции может варьировать у пациентов с ОМЛ с *inv(16)(p13.1q22)/CBFB-MYH11* (рисунк 7). В то же время нормальные моноциты, расположенные на графиках отдельной группой клеток, не имеющие иммунофенотипических аберраций и никак не связанные по изменению экспрессии антигенов с миелобластной популяцией, к опухоли при итоговом описании иммунофенотипа ОМЛ отнесены быть не могут.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное нами исследование позволило детально охарактеризовать иммунофенотип опухолевых клеток при ОМЛ с *inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB-MYH11*. Показанное типичное распределение клеток на графиках позволяет предполагать наличие столь важной цитогенетической аберрации уже на стадии проведения иммунофенотипирования. Также рекомендовано при описании иммунофенотипа образования учитывать часто выявляемую гетерогенность опухолевой популяции.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Mikhailova E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3450-0498>

Kashpor S.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5220-7412>

Zerkalenkova E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9634-5828>

Semchenkova A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7082-1694>

Dubrovina M.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8228-4876>

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

Olshanskaya Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2352-7716>

Kalinina I.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0813-5626>

Maschan M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1735-0093>

Maschan A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0016-6698>

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

Popov A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0889-6986>

Литература

- Norris D., Stone J. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Geneva: WHO; 2008; 22–23.
- Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R., Thiele J., Borowitz M.J., Le Beau M.M. et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127 (20): 2391–405.
- Liu P., Tarle S.A., Hajra A., Claxton D.F., Marlton P., Freedman M. et al. Fusion between transcription factor CBF beta/PEBP2 beta and a myosin heavy chain in acute myeloid leukemia. *Science* 1993; 261 (5124): 1041–4.
- Bain B.J., Bene M.C. Morphological and immunophenotypic clues to the WHO categories of acute myeloid leukaemia. *Acta haematologica* 2019; 141 (4): 232–44.
- Bolouri H., Farrar J.E., Triche Jr.T., Ries R.E., Lim E.L., Alonzo T.A. et al. The molecular landscape of pediatric acute myeloid leukemia reveals recurrent structural alterations and age-specific mutational interactions. *Nature medicine* 2018; 24 (1): 103–12.
- Delaunay J., Vey N., Leblanc T., Fenaux P., Rigal-Huguet F., Witz F. et al. Prognosis of inv(16)/t(16; 16) acute myeloid leukemia (AML): a survey of 110 cases from the French AML Intergroup. *Blood* 2003; 102 (2): 462–9.
- Buldini B., Maurer-Granofszky M., Varotto E., Dworzak M.N. Flow-cytometric monitoring of minimal residual disease in pediatric patients with acute myeloid leukemia: recent advances and future strategies. *Front Pediatr* 2019; 7: 412. DOI: 10.3389/fped.2019.00412
- Bene M.C., Castoldi G., Knapp W., Ludwig W.D., Matutes E., Orfao A. et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995; 9 (10): 1783–6.
- Gonggrijp H.S., Augustinus E., Leeksa C.H. Hot bands: a simple G-banding method for leukemic metaphases. *Cancer genetics and cytogenetics* 1985; 15 (3–4): 373–4.
- McGowan-Jordan J., Simons A., Schmid M. ISCN 2016: An international system for human cytogenomic nomenclature. Karger: Basel; 2016.
- Gabert J., Beillard E., Van der Velde V.H.J., Bi W., Grimwade D., Pallisgaard N. et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia – a Europe Against Cancer program. *Leukemia* 2003; 17 (12): 2318–57.
- Lambert C., Preijers F.W., Yanikkaya Demirel G., Sack U. Monocytes and macrophages in flow: an ESCCA initiative on advanced analyses of monocyte lineage using flow cytometry. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry* 2017; 92 (3): 180–8.
- Von Neuhoff C., Reinhardt D., Sander A., Zimmermann M., Bradtke J., Betts D.R. et al. Prognostic impact of specific chromosomal aberrations in a large group of pediatric patients with acute myeloid leukemia treated uniformly according to trial AML-BFM 98. *J Clin Oncol* 2010; 28 (16): 2682–9.
- Voigt A.P., Brodersen L.E., Alonzo T.A., Gerbing R.B., Menssen A.J., Wilson E.R. et al. Phenotype in combination with genotype improves outcome prediction in acute myeloid leukemia: a report from Children's Oncology Group protocol AAML0531. *Haematologica* 2017; 102 (12): 2058–68.
- Adriaansen H.J., Te Boekhorst P.A., Hagemeyer A.M., van der Schoot C.E., Delwel H.R., van Dongen J.J. Acute myeloid leukemia M4 with bone marrow eosinophilia (M4Eo) and inv(16)(p13q22) exhibits a specific immunophenotype with CD2 expression. *Blood* 1993; 81 (11): 3043–51.
- van Solinge T.S., Zeijlemaker W., Ossenkoppele G.J., Cloos J., Schuurhuis G.J. The interference of genetic associations in establishing the prognostic value of the immunophenotype in acute myeloid leukemia. *Cytometry B Clin Cytom* 2018; 94 (1): 151–8.
- Perea G., Domingo A., Villamor N., Palacios C., Junca J., Torres P. et al. Adverse prognostic impact of CD36 and CD2 expression in adult de novo acute myeloid leukemia patients. *Leukemia research* 2005; 29 (10): 1109–16.
- Mauvieux L., Delabesse E., Bourquelot P., Radford-Weiss I., Béné A., Flandrin G. et al. NG2 expression in MLL rearranged acute myeloid leukaemia is restricted to monoblastic cases. *British journal of haematology* 1999; 107 (3): 674–6.
- Попов А.М., Цаур Г.А., Вержбицкая Т.Ю., Стрелева О.В., Шориков Е.В., Савельев Л.И. и др. Иммунофенотипическая характеристика острого миелоидного лейкоза у детей первого года жизни. *Онкогематология* 2013; 1: 33–9.
- Zerkalenkova E., Mikhaylova E., Lebedeva S., Illarionova O., Baidun L., Kashpor S. et al. Quantification of NG2-positivity for the precise prediction of KMT2A gene rearrangements in childhood acute leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2021; 60 (2): 88–99. DOI: 10.1002/gcc.22915
- Haeflrich T., Winkemann M., Löffler H., Schoch R., Gassmann W., Fonatsch C. et al. The abnormal eosinophils are part of the leukemic cell population in acute myelomonocytic leukemia with abnormal eosinophils (AML M4Eo) and carry the pericentric inversion 16: a combination of May-Grunwald-Giemsa staining and fluorescence in situ hybridization. *Blood* 1996; 87 (6): 2459–63.
- Basso G., Buldini B., De Zen L., Orfao A. New methodologic approaches for immunophenotyping acute leukemias. *Haematologica* 2001; 86 (7): 675–92.
- Creutzig U., van den Heuvel-Eibrink M.M., Gibson B., Dworzak M.N., Adachi S., de Bont E. et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: recommendations from an international expert panel. *Blood* 2012; 120 (16): 3187–205.

Correspondence:

Mahmoud Ahmed El-Hawy,
Pediatrics Department,
Faculty of Medicine, Menoufia University
Address: Shebin el Kom,
32511 Menoufia, Egypt
E-mail: mahmodelhawy18@yahoo.com

Bone changes during and after treatment of childhood acute lymphoblastic leukaemia

S. Ragab, B. Montaser, N. El-Ashmawy, M. El-Hawy

Menoufia University, Menoufia, Egypt

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common childhood malignancy, with a survival rate of 80%. Major complications of leukemia include osteoporosis that requires both a clinically significant fracture history and low bone mineral density (BMD). The present study aims to assess BMD among acute lymphoblastic leukemia patients and survivors using dual-energy x-ray absorptiometry and serum insulin growth factor binding protein 3. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Menoufia University, Egypt. Thirty patients with ALL and thirty survivors who were diagnosed with ALL but completely recovered were enrolled in this study. Sex and age matched normal controls while full history was taken. Patients and survivors were examined for anthropometric measurement. Laboratory including serum IGFBP3 and dual-energy x-ray absorptiometry was done for all. It has been found out that patients and survivors showed a markedly lower BMD than normal population but no history of fracture was found in survivors. In this study, the prevalence of low BMD is 26/30 (86.6%) patients and 25/30 (83.3%) survivors. Also, there was a statistically significant decrease of DEXA scan measures in patients and survivors groups than the control group with a statistically significant decrease in both BMD and Z- score measures in patients and survivors groups than control group. Patients and long-term survivors of childhood ALL are at risk for morbidity associated with low BMD. They may benefit from interventions to optimize bone health as they age.

Ключевые слова: acute lymphoblastic leukemia, osteoporosis, survivors, bone mineral density

Ragab S., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 54–57.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-54-57

Acute lymphocytic leukemia (ALL) is an acute form of leukemia, characterized by the over-production of immature white blood cells, known as lymphoblasts [1].

Lymphoblasts are overproduced in the bone marrow and continuously multiply, causing damage and death by inhibiting the production of normal cells in the bone marrow and by infiltrating to other organs. ALL is most common in children [1].

Osteoporosis is increasingly recognized as one of the major public health problems that occur throughout the world and have massive socioeconomic implications [2]. There are often no warning signs of osteoporosis until a fracture occurs. Many factors may contribute to the reduced bone mineral density (BMD), with advancing age, heredity and decreased weight-bearing activity being the most important. Additional factors include morbidity from other conditions that directly or indirectly lead to loss of bone [3].

Major skeletal complications of leukemia include osteoporosis. Osteoporosis was observed in all phases of the disease at diagnosis, during treatment, and throughout the post-treatment period for as long as 20 years [4].

Risk factors for the development of skeletal complications in ALL include poor nutrition, reduced mobility, impaired bone mineralization, older age at diagnosis and being of male gender [5].

Nutritional and behavioral factors may adversely impact bone health during treatment of ALL. Standard chemotherapy agents, including corticosteroids and methotrexate, have negative effects on bone failure to attain optimal bone mass during adolescence. This contributes to bone mineral deficits typically associated with aging, which may precipitate early onset osteoporosis during adulthood [6].

Thus, long-term survivors of childhood ALL are at risk for morbidity associated with low BMD. They may benefit from interventions to optimize bone health as they age.

MATERIALS AND METHODS

Thirty patients with ALL and receiving treatment and thirty survivors with ALL and completely recovered after completion of chemotherapy were carried out at the Pediatric Departments, Hematology and Oncology Unit and Clinical Pathology Department, Faculty of Medicine, Menoufia University.

Both groups have been compared with 30 control subjects. The control group was selected from comparable healthy control Egyptian children. All patients included in this study were subjected to complete history taking stressing on age, sex, dietetic history, duration of chemotherapy and cumulative dose of corticosteroids.

All groups were subjected to the following investigations. Firstly, laboratory; in which four milliliters (4 ml) of venous blood were withdrawn under complete aseptic conditions from each subject included in the study. 2ml was used for complete blood count. The rest of sample was left to clot for 30 minutes. Serum was separated by centrifugation at 1000 x g for 15 minutes. Another 2ml was used for chemistry (serum IGFBP3, calcium, phosphorus, alkaline phosphatase, kidney function tests, liver function tests). Hemolyzed samples were discarded, while repeated freezing and thawing were avoided.

BMD was measured in all groups using dual energy X-ray absorptiometry (DEXA). All DEXA measurements were performed with the same device, Lunar DPX-IQ apparatus (Lunar DPX-IQ, A+Medical Company, South Carolina, USA). The acquisition site was the lumbar spine (vertebrae L1–L4).

Because it is necessary to evaluate BMD in comparison with age-matched peers, the Z-score is evaluated using age- and sex-specific normative reference gathered on the DXA machine from the same manufacturer [7]. In this study, BMD values were expressed both in gms/cm² and as a z-score. Z-score was assessed by the normal mean value for children and adolescents as follows: Z-score = patient BMD – mean BMD SD.

Low bone mineral content (BMC) or BMD is defined as a BMC or areal BMD Z-score that is less than or equal to -2.0, adjusted for age, gender and body size as appropriate [8].

Informed consents were obtained from the parents of the children studied and the ethical committee in our medical school approved the study.

Statistical analysis

Data was collected, revised, coded and entered to the Statistical Package for Social Science (IBM SPSS) version 20. (SPSS, version 20; SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) The comparison between two groups with qualitative data was done using Chi-square test, ANOVA (Analysis of Variance) while the comparison between two independent groups regarding quantitative data with parametric distribution was done using Post Hoc test. Spearman correlation coefficients were used to assess the correlation between two quantitative parameters in the same group. The confidence interval was set to 95% and the margin of error accepted to 5%.

RESULTS

The present study included thirty patients of ALL receiving treatment with a mean age ranging from 4 to 16 years with mean 7.87 ± 3.83 SD and thirty survivors who were diagnosed with ALL and completely recovered

with a mean age ranging from 6 to 20 years with mean 12.37 ± 4.37 SD. BMD and laboratory correlate osteoporosis require the presence of both a clinically significant fracture history and low BMC.

A reduced BMD defined as low z-score for age was detected in 20 (66.6%), 19 (63.3%) in patients and survivors and 6 (20%), 0 (0.0%) for osteoporosis in patients and survivors, respectively (*table 1, figure 1*). There was a statistically significant decrease of DEXA scan level and BMD measures in the patients and survivors group than the control group. Most of the patients and survivors have low Z-score while all the control group are normal.

Data shows that there was a statistically significant increase in serum IGFBP3 in the patients and survivors group than the control group than normal serum level (*table 2, figure 2*).

Reference for IGFBP3 level was described as increased more than the normal serum level (20–100 pg/ml).

DISCUSSION

The current study aimed to assess BMD in children diagnosed with ALL and who completely recovered using DEXA scan and its relation to serum IGFBP3 level in comparison with a matched group of thirty healthy children. Thirty patients with ALL and thirty survivors were recruited from Hematology and Oncology Clinic, Pediatric Department, Menoufia University.

Patients included 22 males and 8 females; their ages ranged between (4–16 years) who did not receive radiotherapy Mean $\pm$ SD (7.87 ± 3.83 yrs). Survivors were 16 males and 14 females. Their ages ranged from 6 to 20 years who did not receive radiotherapy Mean $\pm$ SD (12.37 ± 4.37 yrs).

The result shows that there was a statistically significant decrease of DEXA scan measures at the lumbar spine in survivors group than the control group with (P -value < 0.0001). The majority of the patients included and survivors had low BMD and low Z-score but survivors did not have osteoporosis as there was no history of fracture.

“Low bone mass for chronologic age” is the preferred terminology when either the BMC or the BMD Z-score is less than or equal to -2.0 Lewiecki et al. [9].

Muszynska-Roslan et al. [10] study the decrease in BMD in childhood ALL patients during therapy, who usually recover, returning to normal ranges, corresponding to the two years after the completion of treatment.

Like our results, Min Jae Kang et al. [11] show that survivors of ALL childhood and adolescent are at risk for osteoporosis (or low bone mass for chronologic age) during and after completion of therapy. At

Table 1
Comparison between study groups as regards DEXA Scan

Parameters	Patients (n = 30)		Survivors (n = 30)		Control (n = 30)		ANOVA test	p-value	Post hoc test
BMD, g/cm ² Mean ± SD	0.55 ± 0.21		0.71 ± 0.23		0.84 ± 0.10		16.639	< 0.001 HS	P < S < C
Z Score of DEXA scan	No	%	No	%	No	%	X² test	p value	
Normal	4	3.3	11	36.7	30	100.0	56.41	< 0.001 HS	
Low z score for age	20	6.6	19	63.3	0	0.0			
Osteoporosis	6	0.0	0	0.0	0	0.0			

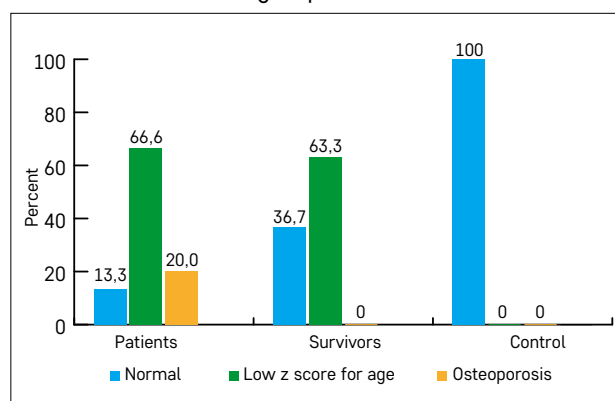
Note. DEXA: dual-energy x-ray absorptiometry.

Table 2
Comparison between studied groups regarding Bone Markers (Serum Ca, Po4, ALP and IGFBP3)

Parameters	Patients (n = 30)		Survivors (n = 30)		Control (n = 30)		ANOVA test	p-value	Post hoc test
Serum Ca, mg/dl Range Mean ± SD	6.8–11.0 9.4 ± 1.07		7.9–11.3 9.3 ± 0.88		9.4–11.5 9.8 ± 0.17		1.658	> 0.05 NS	–
Serum Po4 mg/dl Range Mean ± SD	3.3–6.6 4.5 ± 0.81		2.9–6.4 4.4 ± 0.76		2.9–5.6 4.4 ± 0.74		0.404	> 0.05 NS	–
Serum ALP, IU/L Range Mean ± SD	111–400 176.3 ± 66.9		51–220 143.4 ± 51.1		38–90 66.4 ± 17.9		38.6	< 0.001 HS	C < S < P
IGFBP3, pg/ml Range Mean ± SD	900–1200 1061 ± 86.5		300–601 409.6 ± 70.3		23–80 47.9 ± 14.7		1872.6	< 0.001 HS	C < S < P

Note. NS – non significant (p -value > 0.05); HS – highly significant (p -value < 0.001); C – controls; P – patients; S – survivors; Ca – Calcium; Po4 – Phosphorus; ALP – Alkaline Phosphatase; IGFBP3 – Insulin growth factor binding protein 3

Figure 1
DEXA scan of studied group

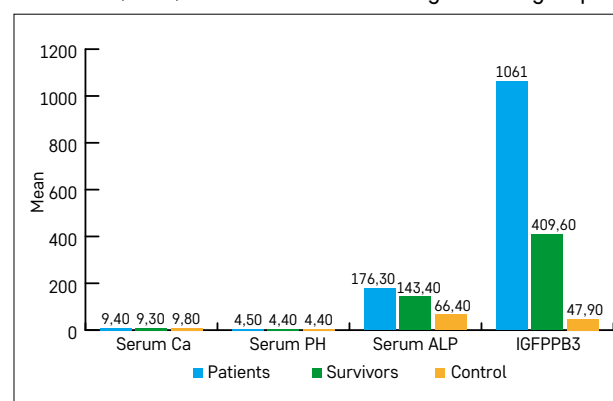


diagnosis, 10% to 20% of children with ALL exhibited reduced BMD at the lumbar spine. During therapy, additional bone mineral loss occurred, especially in early periods of intensified treatment, and approximately 50% of children had a reduction in BMD.

Kaste et al. [12] reported that ALL survivors had a median BMD Z-score of -0.78 standard deviations (SD), and 21% had abnormally low BMD, compared to 5% in normal populations after 15.9 years. Hoorweg-Nijman et al. [13] also concluded that bone development in patients cured of ALL is disturbed, resulting in a significantly reduced BMD. In a 24-year follow-up study, low BMD was found to be more prevalent (24%) than expected based on normative population data.

Contrary to this study and the previous studies, some reported normal BMD after cessation of ALL

Figure 2
Serum Ca, Po4, ALP and IGFBP3 among studied groups



treatment. Van der Sluis et al. [14] reported that adult survivors of ALL whose treatment included cranial irradiation had reduced BMD, while those without cranial irradiation showed normal BMD.

An important finding in our study reveals that there was statistically significant increase serum IGFBP3 of patients and survivors group than control group than normal serum level with (p -value < 0.0001). Both groups had increased level of IGFBP3 > 80 pg/ml.

Similar to our result, NahidReisi et al. [15] included 33 of ALL survivors treated with chemotherapy compared with 33 matched age, sex, and pubertal stage of their healthy siblings. They found that the mean serum level of IGFBP3 in ALL survivors increased compared to the controls group.

The results of this study revealed that there was a statistically significant increase of serum parathor-

more hormone in survivors group compared to the control group with (p -value < 0.0001).

Sebestyen et al. [16] reported the detection of defective bone integrity, associated with inadequate mineralization and abnormal architecture, would prompt the exploration of a role for bisphosphonates to enhance bone health and thereby minimize the risk of osteoporosis and debilitating/life-limiting fractures.

Pfeilschifter et al. [17] reported that chemotherapeutic agents, such as corticosteroids, methotrexate, and alkylating agents were well known to cause BMD deficits directly or indirectly. Corticosteroids inhibit new bone formation by decreasing osteoblastic activity, including osteocalcin production, and by directly increasing osteoclastic bone resorption.

CONCLUSION

A child with ALL may be cured. Still, the effects of treatment are life-long, and he or she is at risk of low bone density and osteoporosis.

We recommend that the patients and survivors of ALL be screened by regular follow up of serum Calcium, Phosphorus, and Alkaline phosphatase, and DEXA scan. Early detection of vitamin D deficiency with proper treatment by vitamin D supplementation should be done. Hypovitamin D is common among healthy children in our society, so enhancement of diet quality is necessary.

FUNDING

Not specified.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

References

- Seiter K., Sarkodee-Adoo C., Talavera F., Sacher R.A., Besa E.C., eds. Acute Lymphoblastic Leukemia. Medscape Reference. WebMD. Retrieved 17 April 2014.
- Lin J.T., Lane J.M. Osteoporosis: a review. Clin Orthop Relat Res 2004; 425: 126–34.
- NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. JAMA 2001; 285: 785–95.
- Haddy T.B., Adde M.A., McCalla J. Late effects in longterm survivors of high-grade non-Hodgkin's lymphomas. J Clin Oncol 1998; 16: 2070–9.
- Kishi S., Griener J., Cheng C., Das S., Cook E.H., Pei D., et al. Homocysteine, pharmacogenetics, and neurotoxicity in children with leukemia. J Clin Oncol 2003; 21 (16): 3084–91.
- Pui C.H., Sandlund J.T., Pei D. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Total Therapy Study XIII B at St Jude Children's Research Hospital. Blood 2004; 104 (9): 2690–6.
- ISCD Position Development Conference. Diagnosis of osteoporosis in men, premenopausal women, and children. J Clin Densitom 2004; 7: 17–26.
- Frank R., Horacio P., Linda D.M., Raoul H.E., Richard C., Henderson C.M., et al. Fracture Prediction and the Definition of Osteoporosis in Children and Adolescents: The ISCD Pediatric Official Positions. J Clin Densitom 2007; 1: 22–8.
- Lewiecki E.M., Baim S., Binkley N., Bilezikian J.P., Kendler D.L. Report of the International Society for Clinical Densitometry 2007 Adult Position Development Conference and Official Positions. South Med J 2008; 101: 735–9.
- Muszynska-Roslan K., Panasiuk A., Latoch E., Krawczuk-Rybak M., Konstantynowicz J. Little evidence of a low bone mass in acute lymphoblastic leukemia survivors. J Clin Densitom 2012; 15: 108–15.
- Kang M.J., Lim J.S. Bone mineral density deficits in childhood cancer survivors: Pathophysiology, prevalence, screening, and management. Korean J Pediatr 2013; 56 (2): 60–7.
- Kaste S.C., Jones-Wallace D., Rose S.R., Boyett J.M., Lustig R.H., Rivera G.K., et al. Bone mineral decrements in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: frequency of occurrence and risk factors for their development. Leukemia 2001; 15: 728–34.
- Hoorweg-Nijman J.J.G., Kardos G., Roost J.C. Bone mineral density and markers of bone turnover in young adult survivors of childhood lymphoblastic leukemia. Clin Endocrinol 1999; 50: 237–44.
- Van der Sluis I.M., van den Heuvel-Eibrink M.M., Hahlen K., Krenning E.P., de Muinck Keizer-Schrama S.M. Bone mineral density, body composition, and height in long-term survivors of acute lymphoblastic leukemia in childhood. Med Pediatr Oncol 2000; 35: 415–20.
- Reisi N., Iravani P., Raeissi P., Keli-shadi R. Vitamin D and Bone Minerals Status in the Long-term Survivors of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. Int J Prev Med 2015; 6: 87.
- Sebestyen J.F., Srivastava T., Alon U.S. Bisphosphonates use in children. Clin Pediatr (Phila) 2012; 51: 1011–24.
- Pfeilschifter J., Diel I.J. Osteoporosis due to cancer treatment: pathogenesis and management. J Clin Oncol 2000; 18: 1570–93.

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 20.11.2020
Принята к печати 02.02.2021

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-58-65

Особенности пула хранения и морфологии тромбоцитов у детей с неуточненным геморрагическим синдромом

Д.М. Полохов¹, А.В. Пшонкин¹, А.А. Игнатова¹, Е.А. Пономаренко¹, Д.В. Федорова¹, М.Ю. Алексенко¹, К.А. Воронин¹, Е.А. Серегина¹, А.В. Полетаев¹, Г.А. Новичкова¹, М.А. Пантелеев¹⁻⁴, 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

³ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва

⁴ФГАУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Долгопрудный

Несмотря на современные возможности лабораторной диагностики геморрагического синдрома, у некоторых пациентов причины кровоточивости остаются неуточненными. Среди данных причин потенциально могут скрываться легкие дефекты тромбоцитарного звена гемостаза. Цель работы: выявить особенности функции тромбоцитарного звена гемостаза у детей с неуточненным геморрагическим синдромом. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Обследованы 50 пациентов в возрасте от 2 до 17 лет с различными проявлениями кровоточивости и отсутствием лабораторных данных за коагулопатию и/или тромбоцитопению, проведена цитофлуориметрия тромбоцитов с активацией. Оценены морфологические характеристики тромбоцитов по размеру/гранулярности (FSC/SSC), плотность рецептора CD62p как маркера секреции α -гранул, δ -гранулы тромбоцитов по флуоресценции загруженного мепакрина. Активация тромбоцитов производилась смесью CRP + TRAP. Сравнение проводили с результатами обследования 50 условно здоровых детей (контрольная группа, КГ) в возрасте от 2 до 17 лет. Выраженность геморрагического синдрома оценивалась при помощи стандартизованной шкалы ISTH BAT. Тяжесть геморрагических проявлений по шкале ISTH BAT составила от 2 до 6 баллов. В результате проведенного исследования были выделены 2 группы пациентов, различающиеся по расчетному параметру отношению FSC/SSC, для неактивированных тромбоцитов. В КГ медиана FSC/SSC составила 1,235 (от 1,1 до 1,4), в группе 1 ($n = 19$) – 0,97 (от 0,9 до 1,05), и в группе 2 ($n = 31$) – 1,24 (от 1,11 до 1,43). Количество тромбоцитов достоверно не различалось между КГ и группами пациентов 1 и 2. В группах пациентов наблюдалась достоверная корреляционная связь между уменьшением количества тромбоцитов и увеличением их размера и гранулярности с сохранением высокой корреляционной связи между размером и гранулярностью. В группе 1 общая гранулярность была повышена независимо от размера и количества тромбоцитов, были увеличены объем плотных гранул и мембранный CD62p, но снижен гранулярный CD62p. Механизм дегрануляции не был нарушен в обеих группах пациентов. Полученные нами результаты убедительно указывают на вклад нарушений пула хранения и морфологии тромбоцитов в развитие геморрагических проявлений у детей с неуточненным геморрагическим синдромом.

Ключевые слова: дети, кровоточивость, геморрагический синдром, тромбоциты, тромбоцитопатия

Полохов Д.М. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 58–65.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-58-65

Specificities of the storage pool and morphology of platelets in children with unspecified hemorrhagic syndrome

D.M. Polokhov¹, A.V. Pshonkin¹, A.A. Ignatova¹, E.A. Ponomarenko¹, D.V. Fedorova¹, M.Yu. Aleksenko¹, K.A. Voronin¹, E.A. Seregina¹, A.V. Poletaev¹, G.A. Novichkova¹, M.A. Panteleev¹⁻⁴, P.A. Zharkov¹

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

²Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Moscow

³Lomonosov Moscow State University, Moscow

⁴Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny

Despite modern possibilities of laboratory diagnosis of hemorrhagic syndrome, in some patients, the causes of bleeding remain unspecified. Among these reasons, mild defects in the platelet link of hemostasis can potentially be hidden. The aim of the study is to identify the features of the function of the platelet hemostasis in children with unspecified hemorrhagic syndrome. 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. We examined 50 patients aged 2 to 17 years with various manifestations of bleeding and lack of laboratory data proving coagulopathy and/or thrombocytopenia; platelet cytofluorimetry with activation was performed. The morphological characteristics of platelets in terms of size/granularity (FSC/SSC), the density of the CD62p receptor as a marker of α -granule secretion, and δ -granules of platelets were assessed by the fluorescence of loaded mepacrine. Platelet activation was performed with a CRP + TRAP mixture. Comparison was carried out with the results of examination of 50 healthy children (control group - CG) aged 2 to 17 years. The severity of hemorrhagic syndrome was assessed using the standardized ISTH BAT score. The severity of hemorrhagic manifestations according to BAT ISTH score ranged from 2 to 6 points. As a result of the study, two groups of patients differing in the calculated parameter of the FSC/SSC ratio for non-activated platelets were identified. In the CG, the median FSC/SSC was 1.235 (from 1.1 to 1.4), in group 1 ($n = 19$), the median was 0.97 (from 0.9 to 1.05), and in group 2 ($n = 31$), the median was 1.24 (from 1.11 to 1.43). The number of platelets of the CG and the groups of patients did not differ significantly. A significant correlation between a decrease in the number of platelets and an increase in their size and granularity, while maintaining a high correlation between size and granularity was observed in groups of patients. In group 1, the overall granularity was increased regardless of the size and number of platelets, the volume of dense granules and membrane CD62p was increased, but the granular CD62p was decreased. The degranulation mechanism was not impaired in both groups of patients. Our results indicate convincingly the contribution of the storage pool and platelet morphology disorders to the development of hemorrhagic manifestations in children with unspecified hemorrhagic syndrome.

Key words: children, bleeding, hemorrhagic syndrome, platelets, thrombocytopenia

Polokhov D.M., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 58–65.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-58-65

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPOH»

Received 20.11.2020

Accepted 02.02.2021

Correspondence:

Dmitry M. Polokhov,
pathologist, laboratory of clinical
hemostasis, Dmitry Rogachev National
Medical Research Center of Pediatric
Hematology, Oncology and Immunology,
Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: dmitrii.polokhov@gmail.com

Тромбоцитопатии представляют собой гетерогенную группу заболеваний, точная распространенность которых неизвестна, но она может варьировать от 2/1 000 000 для некоторых аутосомно-рецессивных форм до 1/100 для некоторых легких дефектов секреции тромбоцитов [1–3].

На сегодняшний день такие тромбоцитопатии, как тромбоастения Гланцмана или синдром Бернара–Сулье, довольно легко идентифицировать, диагностика большинства других форм затруднена и требует комплексного анализа. Однако единые диагностические критерии для редких и особенно неклассифицированных тромбоцитопатий до сих пор не разработаны. Многие лабораторные методы, используемые для оценки, недостаточно стандартизованы, технически сложны и плохо воспроизводимы [4, 5]. В международном исследовании с участием 202 лабораторий из 37 стран описаны результаты обследования > 14 000 пациентов с диагнозом: врожденные нарушения функции тромбоцитов. Среди обследованных пациентов ~ у 60% (~ 8600 пациентов) не было выявлено нарушение функции тромбоцитов, а среди остальных больных (~ 5800) у 53,9% (~ 3100 пациентов) были обнаружены известные ранее тромбоцитопатии, однако, несмотря на установленные функциональные особенности, конкретный дефект тромбоцитарного звена не был верифицирован у 34,1% (~ 2200 пациентов) [1].

Нарушения количества тромбоцитов, их морфологии, фенотипа и внутриклеточных механизмов передачи сигналов определяют специфику дисфункции тромбоцитарного звена гемостаза и клиническую картину. Пациенты с микроциркуляторными кровоизлияниями в анамнезе (семейными или нет), у которых были исключены приобретенные лекарственные причины дисфункции тромбоцитов, иммунная тромбоцитопения, болезнь Виллебранда и нарушения плазменного звена гемостаза, нуждаются в лабораторных исследованиях для выявления тромбоцитопатии.

Оптическая агрегометрия (ОА) остается «золотым стандартом» для тестирования функции тромбоцитов из-за ее низкой стоимости и широкой распространенности, но преимущества проточной цитометрии для обнаружения фенотипа новых, ранее нераспознанных форм дисфункции тромбоцитов очевидны [4, 6]. Проточная цитометрия требует небольшого объема образца крови и позволяет оценивать количество, размер и гранулярность тромбоцитов, их функциональные маркеры, такие как гликопротеин Ib/V/IX, гликопротеин IIb/IIIa, CD62p, плотные гранулы (δ -гранулы), прокагулянтная активность и др., их изолированные или сочетанные нарушения в покое и после активации [4, 6–9].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами проведено ретроспективное исследование, одобренное независимым этическим комитетом (протокол №8/2016 от 18.10.2016) и утвержденное решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В качестве контрольной группы (КГ) были использованы образцы крови 50 условно здоровых добровольцев в возрасте 2–17 лет (медиана 10 лет), которые проходили плановое лабораторное обследование в условиях Центра по причинам, не связанным с жалобами на повышенную кровоточивость или другое заболевание крови (обследование в рамках ежегодных диспансеризаций или при необходимости проведения плановых оперативных вмешательств). В период с марта 2016 г. по февраль 2019 г. под наблюдением находились 50 пациентов с геморрагическим синдромом неустановленной этиологии, которым по результатам проведенного обследования были исключены диагнозы: коагулопатия, тромбоцитопения или болезнь Виллебранда. Проявления геморрагического синдрома были задокументированы в соответствии с требованием стандартизованной шкалы BAT от ISTH SSC [10]. Письменное информированное согласие было получено от всех официальных представителей пациентов и участников КГ.

Функциональная активность тромбоцитов: проточная цитометрия

В цитометрическом исследовании мы проанализировали морфологические характеристики тромбоцитов по прямому (FSC), характеризующему размер, и боковому (SSC) светорассеянию, характеризующему гранулярность клетки в состоянии покоя и после активации. Активацию проводили смесью TRAP-6 (аналог тромбина, агонист рецептора PAR-1) и CRP (аналог коллагена, агонист гликопротеина VI). CD62p (P-селектин) является маркером α -секреции, а мепакрин использован для идентификации нарушений δ -гранул тромбоцитов. После активации высвобождение α -гранул оценивалось с помощью определения отношения экспансированного (гранулярного) CD62p к мембранному CD62p (индекс дегрануляции α -гранул). Индекс дегрануляции плотных гранул определяли как отношение флуоресценции мепакрина в покое и после активации. Определение описанных маркеров было проведено на оборудовании и по методике, описанным ранее [7, 11, 12]. Для характеристики соотношения размера и гранулярности тромбоцитов был введен параметр FSC/SSC до и после активации. Количество тромбоцитов определяли с использованием проточного цитометра одновременно с фенотипированием образцов. Сравнение проводили с результатами обследования лиц КГ.

Статистический анализ

Анализ статистических различий проводили с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни с уровнем значимости $p < 0,05$. Для корреляционного анализа был рассчитан коэффициент корреляции Пирсона и 95% доверительные интервалы (ДИ). Для анализа линейной зависимости использовалась линейная регрессия.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая характеристика пациентов по количеству тромбоцитов, клинической картине и оценке кровоточивости

Обследованы 22 мальчика и 28 девочек (соотношение 1:1,27). Медиана возраста обращения составила 9 (2–17) лет. Количество тромбоцитов варьировало от 141 до 470 тыс/мкл с медианой 307 тыс/мкл. КГ составили 23 мальчика и 27 девочек (соотношение 1:1,17). Медиана возраста составила 10 (2–17) лет. Количество тромбоцитов варьировало от 157 до 459 тыс/мкл с медианой 274 тыс/мкл.

Пациенты имели тяжесть геморрагического синдрома от 2 до 6 баллов. Кровоточивость проявлялась в различных комбинациях экхимозов и петехиальной сыпи, носовых кровотечений (в том числе обильных, требующих госпитализации), кровоточивостью со слизистых ротовой полости, меноррагиями, повышенной кровоточивостью при оперативных вмешательствах и из мелких ран, после удаления зуба, гематурией, желудочно-кишечным кровотечением (прожилки крови в кале), гемартрозами. У 25 пациентов симптомы кровоточивости оценивались в 2 балла, у 25 – от 3 до 6 баллов по шкале BAT.

Проточная цитометрия

Анализ морфологии по FSC и SSC тромбоцитов в когорте пациентов позволил выделить 2 группы (рисунк 1А). В КГ медиана FSC/SSC для неактивированных тромбоцитов составила 1,235 (от 1,1 до 1,4), в группе из 19 (38%) пациентов (группа 1) – 0,97 (от 0,9 до 1,05), в группе из 31 (62%) пациента (группа 2) – 1,24 (от 1,11 до 1,43) (рисунк 1). Отношение FSC/SSC в группе 1 было достоверно ниже при сравнении с КГ и группой 2 ($p < 0,001$). Корреляция Пирсона между FSC и SSC тромбоцитов в состоянии покоя в КГ здоровых детей была высокой и достоверной ($p < 0,001$), в группах 1 и 2 – весьма высокой и достоверной ($p < 0,001$) (рисунк 1А).

Группы пациентов 1 и 2 достоверно не отличались от КГ по количеству тромбоцитов ($p = 0,62$ и $p = 0,45$ соответственно) (рисунк 2А) и FSC в покое ($p = 0,34$ и $p = 0,9$ соответственно) (рисунк 2Б). В группе 1 значение SSC в покое было достоверно выше по сравнению с КГ и группой 2 ($p < 0,001$) (рисунк 2Б), что позволило сделать вывод о том, что у пациентов группы 1 гранулярность повышена независимо от размера и количества тромбоцитов.

В КГ не наблюдалось достоверной корреляции Пирсона между количеством тромбоцитов и FSC ($p = 0,5$) (рисунк 3А), SSC ($p = 0,6$) (рисунк 3Б) и отношением FSC/SSC ($p = 0,67$) (рисунк 3В). У пациентов в группе 1 наблюдалась заметная и достоверная корреляция Пирсона между уменьшением количества тромбоцитов и увеличением FSC ($p = 0,01$) (рисунк 3А) и SSC ($p = 0,04$) (рисунк 3Б), но корреляция между количеством тромбоцитов и отношением FSC/SSC была недо-

Рисунок 1

Различия FSC и SSC между КГ и группами пациентов

Панели А и В показывают различия в FSC, SSC и отношении FSC/SSC между КГ и группами пациентов. Данные представлены в виде графиков аппроксимированных кривых (А) и прямоугольных диаграмм с перекрытием отдельных точек данных (Б)

Figure 1

The differences in FSC and SSC between the control group (CG) and groups of patients

Panel A and B show the differences in FSC, SSC and FSC/SSC ratio between the control group (CG) and the groups of patients. The data are presented in the form of a fitted line plot (A) and a box plot with some overlapping data points (B).

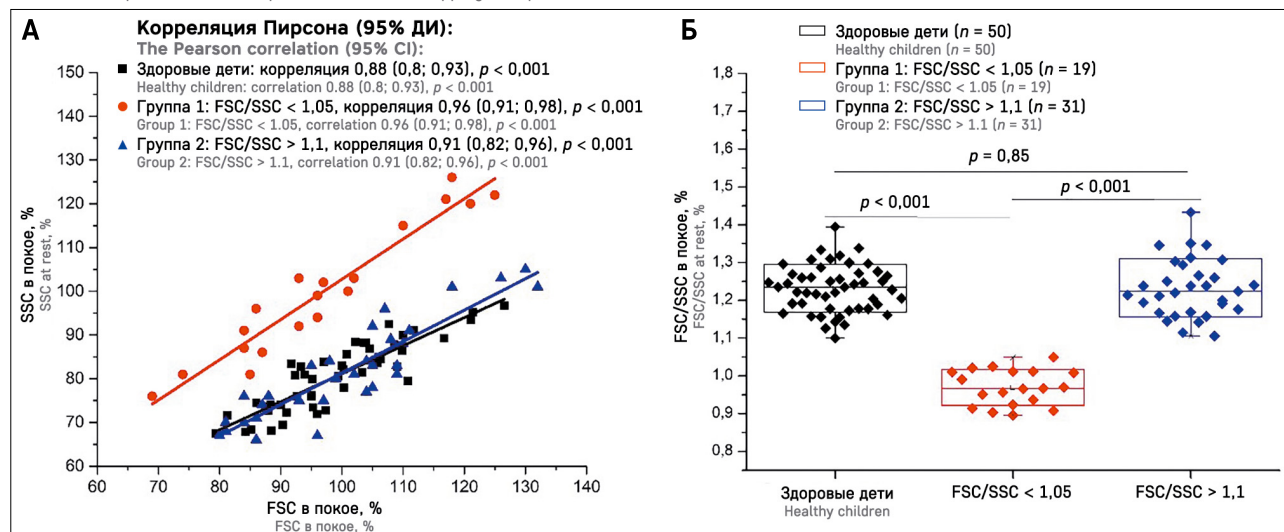


Рисунок 2

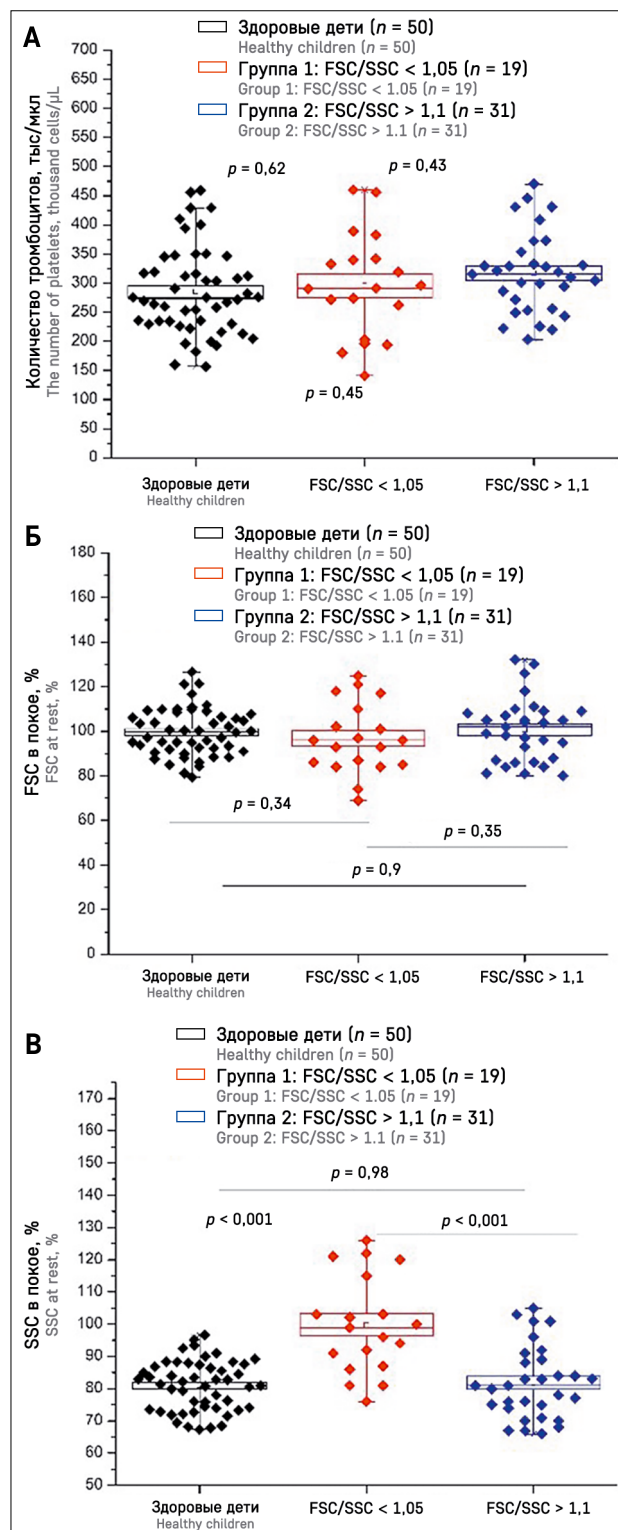
Количественные и морфологические характеристики тромбоцитов здоровых добровольцев и групп пациентов

Панели А и Б показывают отсутствие различий в количестве тромбоцитов и FSC между КГ и группами пациентов. Панель В демонстрирует повышенный уровень SSC в группе 2. Данные представлены в виде прямоугольных диаграмм с перекрытием отдельных точек данных

Figure 2

Quantitative and morphological characteristics of platelets in healthy volunteers and the groups of patients

Panel A and B show no differences in the number of platelets and FSC between the CG and the groups of patients. Panel C shows an increased SSC level in group 2. The data are presented in the form of box plots with some overlapping data points



верной ($p = 0,1$) (рисунок 3B). В группе 2 также наблюдалась заметная и достоверная корреляция Пирсона между уменьшением количества тромбоцитов и увеличением FSC ($p = 0,01$) (рисунок 3A) и SSC ($p = 0,006$) (рисунок 3Б), но корреляция между количеством тромбоцитов и отношением FSC/SSC отсутствовала (рисунок 3B). Таким образом, сходно с детьми из КГ у пациентов групп 1 и 2 корреляция между размером и количеством тромбоцитов, а также между гранулярностью и количеством тромбоцитов является независимой, т. е. нет прямой связи между уменьшением количества тромбоцитов, их размером и гранулярностью.

В группе 1 на нестимулированных тромбоцитах мембранный CD62p был достоверно выше при сравнении с КГ ($p < 0,001$) и группой 2 ($p = 0,003$). КГ и группа 2 достоверно не различались ($p = 0,67$) (рисунок 4A). Индекс дегрануляции α -гранул по CD62p в группе 1 был достоверно ниже, чем в КГ ($p < 0,001$) и группе 2 ($p = 0,003$), но достоверно не различался между КГ и группой 2 ($p = 0,28$) (рисунок 4Б). После активации в КГ наблюдалась умеренная достоверная корреляция Пирсона между CD62p и FSC ($p = 0,002$), CD62p и SSC ($p < 0,001$) (рисунок 4B, Г). В группе 1 корреляция Пирсона между CD62p и FSC, CD62p и SSC отсутствовала ($-0,07$ и $0,008$ соответственно) (рисунок 4Г). В группе 2 наблюдалась слабая недостоверная корреляция Пирсона между CD62p и FSC ($p = 0,13$) и умеренная достоверная корреляция CD62p и SSC ($p = 0,02$) (рисунок 4B, Г). Таким образом, выявлено, что у пациентов в группе 1 мембранный CD62p повышен, а гранулярный снижен.

Флуоресценция мепакрина плотных гранул была достоверно повышена в группе 1 по сравнению с КГ ($p = 0,04$), но достоверных различий не наблюдалось между КГ и группой 2 ($p = 0,35$) и между группами пациентов ($p = 0,38$) (рисунок 5A). После активации различий не наблюдалось между КГ и группами пациентов ($p > 0,05$) (рисунок 5Б). Индекс дегрануляции плотных гранул достоверно не различался между КГ и группами пациентов ($p > 0,05$), но был достоверно снижен в группе 2 по сравнению с группой 1 ($p = 0,02$) (рисунок 5Б). Таким образом, объем плотных гранул был увеличен у пациентов в группе 1, а секреция плотных гранул сохранна у пациентов в обеих группах. В покое в КГ корреляционная связь между флуоресценцией мепакрина плотных гранул и SSC была заметной и достоверной ($p < 0,001$), у пациентов группы 1 корреляция была умеренной и достоверной ($p = 0,05$), в группе 2 – высокой и достоверной ($p < 0,001$) (рисунок 5Г). Корреляция между флуоресценцией мепакрина плотных гранул и отношением FSC/SSC отсутствовала в КГ, была слабой и недостоверной ($p = 0,3$) в группе 1, но была умеренной и достоверной ($p = 0,007$) в группе 2 (рисунок 5Е).

Тяжесть проявлений геморрагического синдрома по ВАТ в группе 1 варьировала от 2 до 6 баллов с медианой 2 балла, в группе 2 – от 2 до 5 баллов с медианой 3 балла, группы достоверно не различались статистически ($p = 0,52$) (рисунки 5Е), что указывает на неоднозначность взаимосвязей между выявленными нарушениями морфологии и пула хранения с тяжестью геморрагических проявлений.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основная цель данной работы заключалась в выявлении возможных связей между морфологическими характеристиками тромбоцитов и признаками нарушений пула хранения у пациентов с неуточненным геморрагическим синдромом.

В ходе проведенного анализа нами было убедительно продемонстрировано, что, исходя из морфологических и функциональных характеристик, возможно выделение подгруппы пациентов с характерными лабораторными особенностями. Выявлено, что у 38% детей с неуточненным геморрагическим синдромом (группа 1)

имеется ряд общих специфических черт морфофункциональных особенностей тромбоцитов, таких как: 1) повышение гранулярности тромбоцитов за счет увеличения количества плотных гранул вне зависимости от размера и количества тромбоцитов; 2) повышение количества CD62p как потенциального маркера внутрисосудистой активации тромбоцитов и его снижение после активации тромбоцитов *in vitro*.

Насколько нам известно, ранее в литературе не описывалась такая взаимосвязь между количественными и морфологическими изменениями тромбоцитов в сочетании с признаками нарушений их гранул у пациентов с неуточненным геморрагическим синдромом. При обследовании пациентов индивидуально выявленные отклонения малозаметны ввиду своей неинтенсивной выраженности и мозаичности, но они достоверны при изучении когорт пациентов.

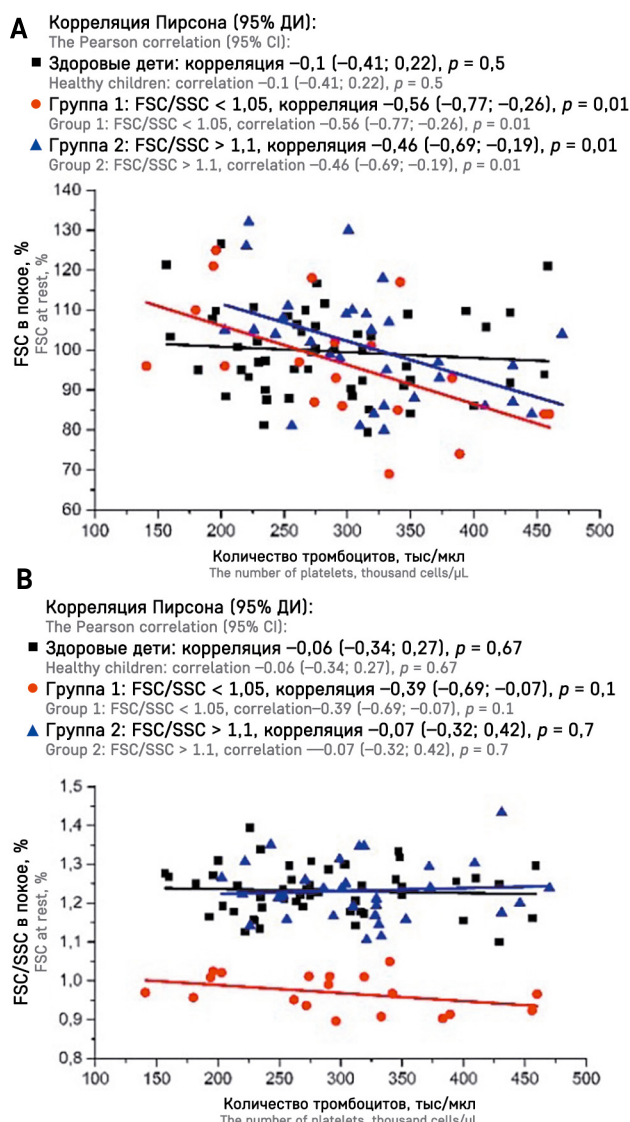
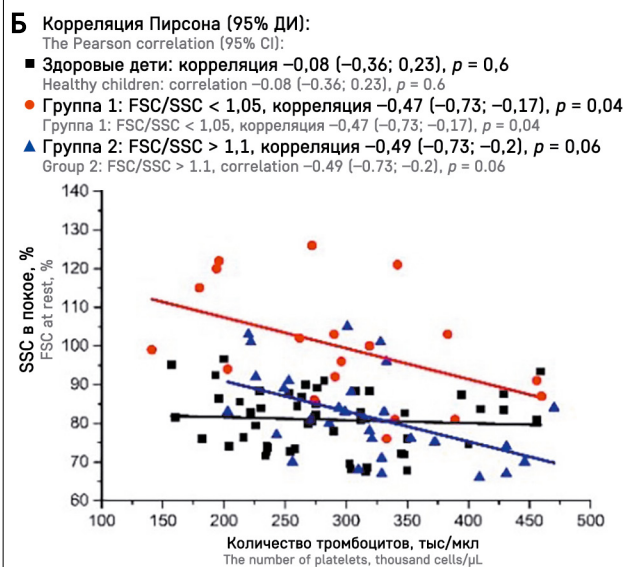
Известно, что размер тромбоцитов может увеличиваться при тромбоцитопенических состояниях, в том числе вследствие изменений характера тромбоцитопоэза [13]. У пациентов, включенных в исследование, тромбоцитопения не наблюдалась, но размер

Рисунок 3

Корреляционные связи между количеством, размером и гранулярностью тромбоцитов у здоровых добровольцев и групп пациентов. Панели А и Б показывают отсутствие связей между FSC, SSC и количеством тромбоцитов в КГ, но демонстрируют наличие достоверных корреляционных связей между ними в группах пациентов. Панель В демонстрирует отсутствие корреляционных связей между FSC/SSC и количеством тромбоцитов во всех группах. Данные представлены в виде графиков аппроксимированных кривых

Figure 3

Correlation between the number, size and granularity of platelets in healthy volunteers and the groups of patients. Panel A and B show that there is no significant correlation between FSC, SSC and the number of platelets in the CG, unlike in the groups of patients. Panel B shows no correlation between FSC/SSC and the number of platelets in all groups. The data are presented in the form of fitted line plots



тромбоцитов увеличивался при уменьшении их количества, что позволяет заподозрить повышение темпов клиренса тромбоцитов подобно тому, как это происходит у пациентов с иммунной тромбоцитопенией [7], и, возможно, обуславливает наблюдаемые аномалии и клиническую картину.

Маркером внутрисосудистой преактивации тромбоцитов является мембранный CD62p, но поскольку этот рецептор быстро растворяется *in vivo*, трудно увидеть его значительное увеличение на мембране тромбоцитов без стимуляции [14, 15]. Мы предполагаем, что у пациентов группы 1, повышение CD62p в покое, его достоверное снижение после активации и отсутствие корреляции с FSC и SSC может быть обусловлено частичным внутрисосудистым высвобождением α -гранул тромбоцитов [15].

Ранее N. Boknäs и соавт. в своей работе показали наличие некоторого предиктивного потенциала использования панели агонистов, включающей аденозиндифосфат, TRAP и CRP в низких концентрациях, для выявления нарушений связывания фибриногена и выставления CD62p у пациентов с геморрагическими проявлениями различной тяжести [8]. Возможно, что наблюдаемые маркеры преактивации тромбоцитов могут быть связаны с их последующей частичной десенсибилизацией и гипореактивностью *in vivo*, подобно тому как это было показано на мышиных моделях [16] и у пациентов с диабетом [17]. Однако *in vitro* мы не наблюдали выраженного нарушения самого механизма дегрануляции α - и δ -гранул, возможно, по причине использования высоких концентраций агонистов для стимуляции.

Рисунок 4

Нарушения α -гранул тромбоцитов, оцениваемые по CD62p

Панель А показывает увеличение мембранного CD62p на нестимулированных тромбоцитах, а панель Б – снижение гранулярного CD62p после активации в группе 1 при сравнении с КГ и группой 2. Панели В и Г показывают наличие достоверной корреляционной связи между увеличением FSC, SSC и гранулярного CD62p в КГ, но отсутствие таких корреляций в группе 1. В группе 2 достоверная корреляционная связь наблюдается только между CD62p и SSC. Данные на рисунках А и Б представлены в виде прямоугольных диаграмм с перекрытием отдельных точек данных, на В и Г – в виде графиков аппроксимированных кривых

Figure 4

Disorders of platelet α -granules assessed by CD62p

Panel A shows an increase in membrane CD62p on non-activated platelets, and panel B shows a decrease in granular CD62p after activation in group 1 in comparison with the CG and group 2. Panel B and G show significant correlation between an increase in FSC, SSC and granular CD62p in the CG, but no such correlation is found in group 1. In group 2, significant correlation is observed only between CD62p and SSC. The data are presented in the form of box plots with some overlapping data points (on panel A and B) and in the form of fitted line plots (on panel B and G)

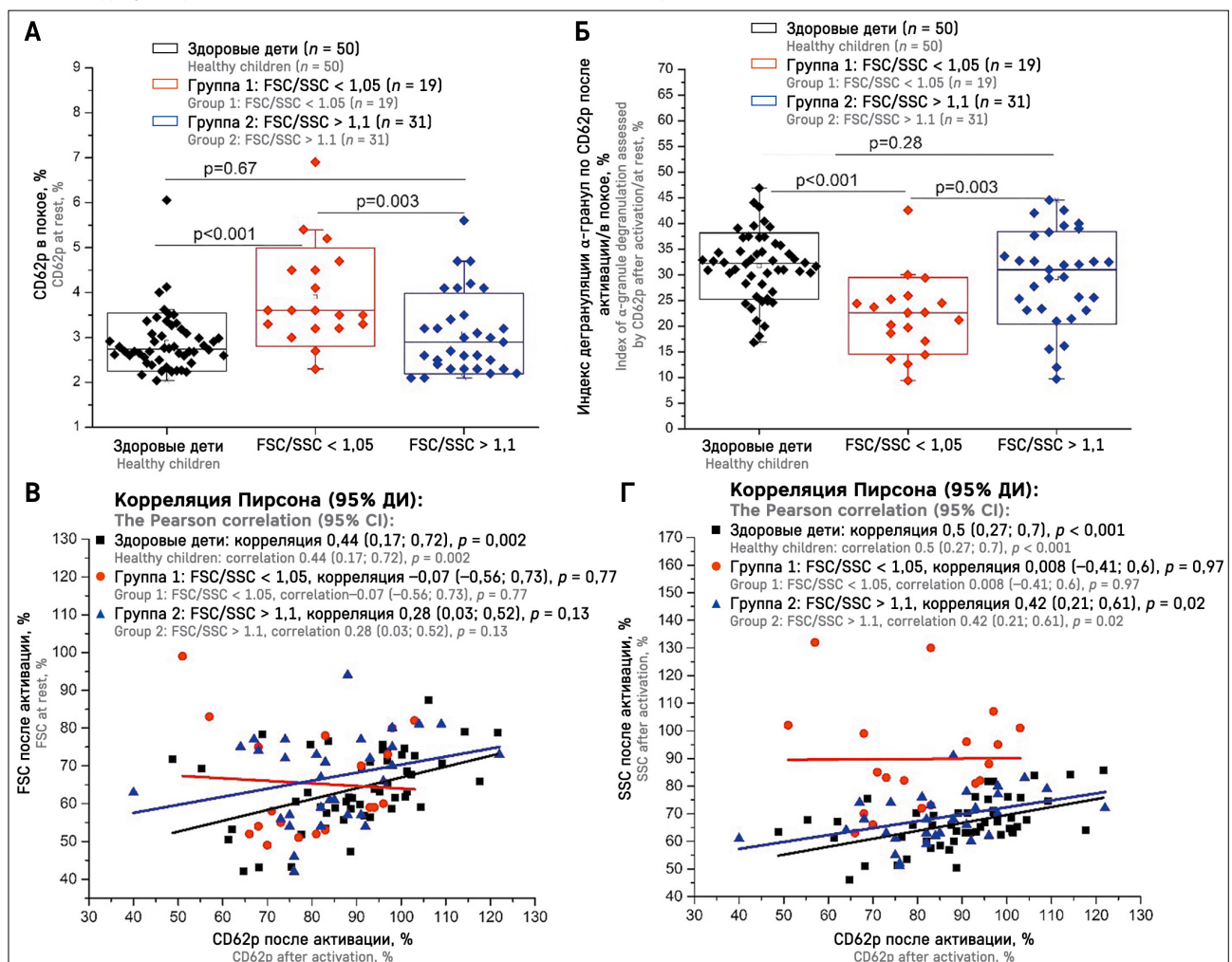


Рисунок 5

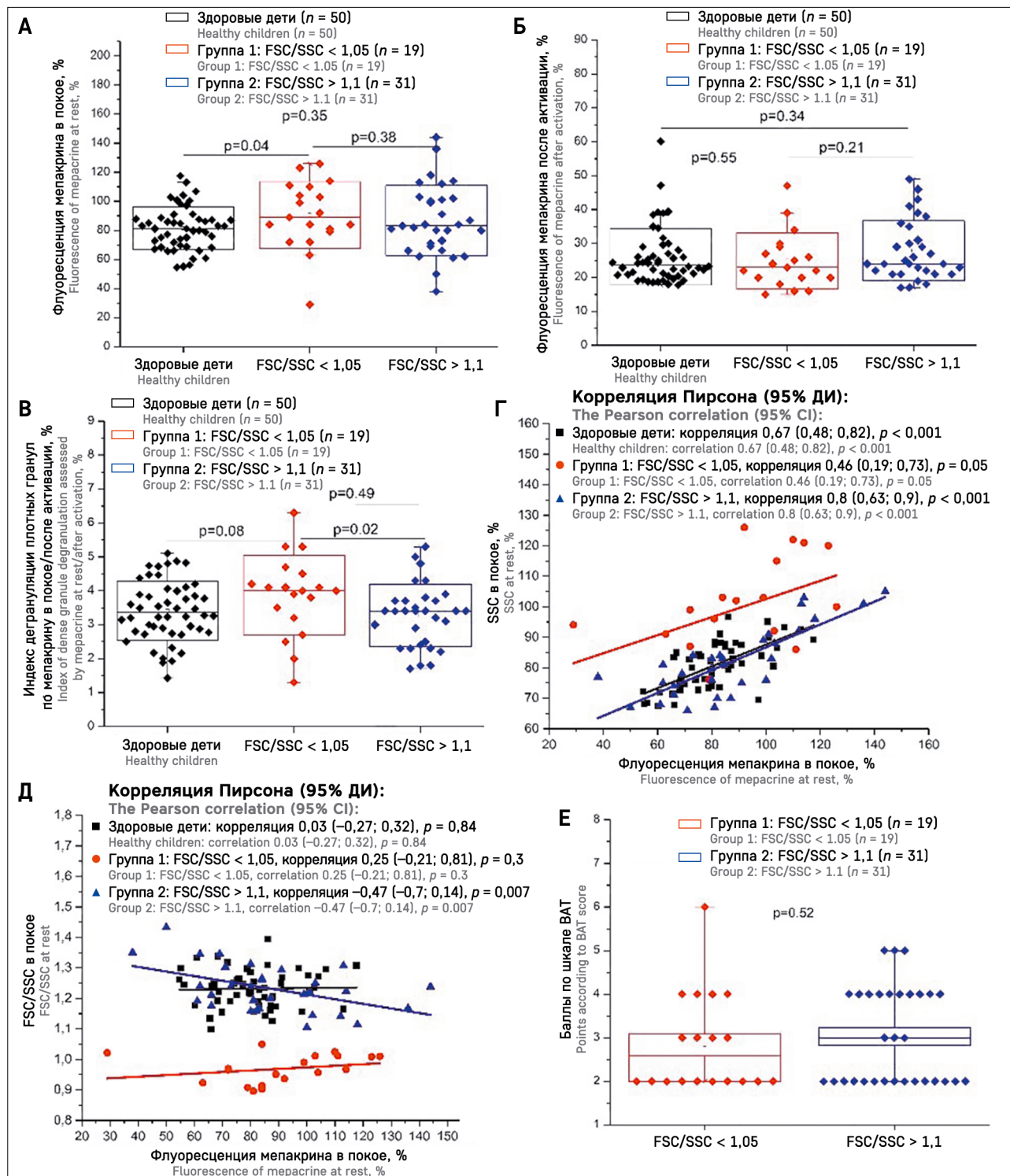
Нарушения δ -гранул тромбоцитов, оцениваемые по флуоресценции мепакрина, и сравнение тяжести геморрагического синдрома в группах пациентов

Панель А показывает достоверное увеличение объема плотных гранул в нестимулированных тромбоцитах у пациентов группы 1 по сравнению с КГ. Панели Б и В демонстрируют отсутствие различий между КГ и группами пациентов по остаточной флуоресценции мепакрина и индексу дегрануляции плотных гранул, что указывает на сохранность ее механизма. Панель Г демонстрирует корреляционную связь между увеличением общей гранулярности и объемом плотных гранул; панель Д показывает отсутствие корреляции между объемом плотных гранул и FSC/SSC в КГ и группе 1, наличие такой корреляции в группе 2. Панель Е демонстрирует отсутствие достоверных различий в тяжести геморрагических проявлений в группах пациентов. Данные на панелях А, Б, В и Е представлены в виде прямоугольных диаграмм с перекрытием отдельных точек данных; Г и Д – в виде графиков аппроксимированных кривых

Figure 5

Disorders of platelet δ -granules assessed by the fluorescence of mepacrine and the comparison of the severity of hemorrhagic syndrome in the groups of patients

Panel A shows a significant increase in the volume of dense granules in non-activated platelets of the patients from group 1 in comparison with the CG. Panel B and C show no difference between the CG and the groups of patients as assessed by the residual fluorescence of mepacrine and the index of degranulation of dense granules, which indicates that the mechanism of degranulation of dense granules is retained. Panel D shows correlation between an increase in the overall granularity and the volume of dense granules; panel E shows no correlation between the volume of dense granules and FSC/SSC in the CG and group 1; in group 2, such correlation is observed. Panel F shows no significant difference in the severity of hemorrhagic manifestations in the groups of patients. In panel A, B, C, F, the data are presented in the form of box plots with some overlapping data points, in panel D and E – in the form of fitted line plots



Подходы к выявлению нарушений функции тромбоцитов у детей осложняются недостаточной изученностью возраст-зависимых различий. В частности, есть сообщения о том, что функциональные маркеры тромбоцитов, определяемые методом проточной цитометрии, могут быть значительно уменьшены [7, 18–20] или увеличены [20, 21] у детей по сравнению со взрослыми.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проблема диагностики дисфункции тромбоцитов сегодня требует корректировки и валидации локальных (в рамках медицинского учреждения) тестов, основанных на методах проточной цитометрии и агрегометрии, позволяющих охватить до 80% известных нозологий и имеющих диагностический потенциал для выявления новых форм нарушений [4, 6, 8]. Перспективным представляется использование низких концентраций агонистов для выявления нарушений активации тромбоцитов.

Выявленные нами достоверные различия между КГ и пациентами с геморрагическими проявлениями разной степени тяжести убедительно указывают на

вклад нарушений пула хранения и морфологии тромбоцитов в развитии геморрагических проявлений. Одновременно данные результаты указывают на перспективность диагностического поиска в данном направлении исследований для неклассифицированных тромбоцитопатий, в том числе у детей с неуточненным геморрагическим синдромом.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Polokhov D.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6905-2878>

Pshonkin A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2057-2036>

Ignatova A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5217-3937>

Ponomarenko E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8697-7570>

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

Aleksenko M.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2521-5353>

Voronin K.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7578-9657>

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

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

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

Panteleev M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8128-7757>

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

Литература

- Gresele P., Harrison P., Bury L., Falcinelli E., Gachet C., Hayward C.P., et al. Diagnosis of suspected inherited platelet function disorders: results of a world-wide survey. *J Thromb Haemost* 2014; 12: 1562–9.
- Gresele P., Falcinelli E., Bury L. Laboratory diagnosis of clinically relevant platelet function disorders. *Int J Lab Hem* 2018; 40 (Suppl 1): 34–45.
- Quiroga T., Goycoolea M., Panes O., Aranda E., Martínez C., Belmont S., et al. High prevalence of bleeders of unknown cause among patients with inherited mucocutaneous bleeding. A prospective study of 280 patients and 299 controls. *Haematologica* 2007; 92 (3): 357–65.
- Andres O., Henning K., Straub G., Pflug A., Manukjan G., Schulze H. Diagnosis of platelet function disorders: A standardized, rational, and modular flow cytometric approach. *Platelets* 2018; 29 (4): 347–56.
- Rand M.L., Reddy E.C., Israels S.J. Laboratory diagnosis of inherited platelet function disorders. *Transfus Apher Sci* 2018; 57: 485–93.
- Ramström S., Södergren A.L., Tynngård N., Lindahl T.L. Platelet Function Determined by Flow Cytometry: New Perspectives? *Semin Thromb and Hemost* 2016; 42 (3): 268–81.
- Ignatova A.A., Ponomarenko E.A., Polokhov D.M., Suntsova E.V., Zharkov P.A., Fedorova D.V., et al. Flow cytometry for pediatric platelets. *Platelets* 2019; 30 (4): 428–37.
- Boknäs N., Ramström S., Faxälv L., Lindahl T.L. Flow cytometry-based platelet function testing is predictive of symptom burden in a cohort of bleeders. *Platelets* 2018; 29: 512–9.
- Gresele P., Harrison P., Gachet C., Hayward C., Kenny D., Mezzano D., et al. Diagnosis of inherited platelet function disorders: Guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2015; 13: 314–22.
- Rodeghiero F., Tosetto A., Abshire T., Arnold D.M., Collier B., James P., et al. ISTH/SSC bleeding assessment tool: a standardized questionnaire and a proposal for a new bleeding score for inherited bleeding disorders. *JTH* 2010; 8 (9): 2063–5.
- Suntsova E.V., Demina I.M., Ignatova A.A., Ershov N.M., Trubina N.M., Dobrynina J., et al. Bleeding tendency and platelet function during treatment with romiplostim in children with severe immune thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol* 2017; 105: 841–8.
- Ignatova A.A., Karpova O.V., Trakhtman P.E., Rumiantsev S.A., Panteleev M.A. Functional characteristics and clinical effectiveness of platelet concentrates treated with riboflavin and ultraviolet light in plasma and in platelet additive solution. *Vox Sang* 2016; 110: 244–52.
- Balduini C.L., Melazzini F., Pecci A. Inherited thrombocytopenias – recent advances in clinical and molecular aspects. *Platelets* 2017; 28: 3–13.
- Michelson A.D., Barnard M.R., Krueger L.A., Valeri C.R., Furman M.I. Circulating monocyte-platelet aggregates are a more sensitive marker of *in vivo* platelet activation than platelet surface P-selectin. *Circulation* 2007; 104: 1533–7.
- Michelson A.D., Barnard M.R., Krueger L.A., Frelinger A.L. 3rd, Furman M.I. Evaluation of platelet function by flow cytometry. *Methods* 2000; 21 (3): 259–70.
- Chaudhary P.K., Kim S., Jee Y., Lee S.H., Park K.M., Kim S. Role of GRK6 in the regulation of platelet activation through selective G protein-coupled receptor (GPCR) desensitization. *Int J Mol Sci* 2020; 21: 1–14.
- Mahmoodian R., Salimian M., Hamidpour M., Khadem-Maboudi A.A., Gharehbaghian A. The effect of mild agonist stimulation on the platelet reactivity in patients with type 2 diabetes mellitus. *BMC Endocr Disord* 2019; 19: 1–8.
- Koltsova E.M., Balashova E.N., Ignatova A.A., Poletaev A.V., Polokhov D.M., Kuprash A.D., et al. Impaired platelet activity and hypercoagulation in healthy term and moderately preterm newborns during the early neonatal period. *Pediatr Res* 2019; 85 (1): 63–71.
- Hézar N., Potron G., Schlegel N., Amory C., Leroux B., Nguyen P. Unexpected persistence of platelet hyporeactivity beyond the neonatal period: a flow cytometric study in neonates, infants and older children. *Thromb Haemost* 2003; 90 (1): 116–23.
- Polokhov D.M., Ershov N.M., Ignatova A.A., Ponomarenko E.A., Gaskova M.A., Zharkov P.A., et al. Platelet function and blood coagulation system status in childhood essential thrombocythemia. *Platelets* 2019; 31 (8): 1001–11.
- Yip C., Linden M.D., Attard C., Monagle P., Ignjatovic V. Platelets from children are hyper-responsive to activation by thrombin receptor activator peptide and adenosine diphosphate compared to platelets from adults. *Br J Haematol* 2015; 168: 526–32.

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 23.10.2020
Принята к печати 02.02.2021

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-66-74

Хориоидкарцинома у детей

Э.Ф. Валиахметова^{1, 2}, Л.И. Папуша¹, А.В. Санакоева¹, Л.В. Шишкина², О.И. Быданов¹, Г.А. Новичкова¹, С.К. Горелышев², А.И. Карачунский¹

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

²ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва

Хориоидкарцинома (ХК) представляет собой редкую, агрессивную опухоль головного мозга у детей с низкими показателями выживаемости. В настоящее время не существует определенной оптимальной стратегии лечения этого новообразования. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В исследование были включены больные с верифицированным диагнозом «хориоидкарцинома» в возрасте от 0 до 18 лет в период с 01.01.2009 по 31.12.2019. Всего было зарегистрировано 32 пациента. Медиана возраста составила 2,65 года, 93,5% ХК локализовались в боковых желудочках. Метастазы на момент постановки диагноза были обнаружены в 21,8% случаев, 5-летняя бессобытийная выживаемость (БСВ) у детей с метастазами была ниже, чем у пациентов без метастазов: $29 \pm 17\%$ и $49 \pm 12\%$ соответственно. В нашей когорте полное удаление опухоли было выполнено 65,6% пациентов. Пятилетняя БСВ у пациентов с полным удалением ХК была выше по сравнению с детьми, которым было выполнено субтотальное и частичное удаление опухоли ($63 \pm 13\%$, $12 \pm 11\%$ и 0% соответственно). К тому же общая выживаемость (ОВ) была немного выше у тех, кому было выполнено полное удаление опухоли, по сравнению с субтотальным и частичным удалением ($74 \pm 12\%$, $67 \pm 16\%$ и 0% соответственно). Из 32 детей с ХК программную химиотерапию (ХТ) получили 15 детей, непрограммную ХТ – 17, 5-летняя БСВ у пациентов, получивших программную и непрограммную ХТ, составила $79 \pm 11\%$ и 0% соответственно ($p = 0,0006$), 5-летняя ОВ у пациентов, получивших программную и непрограммную ХТ, составила $93 \pm 7\%$ и $36 \pm 14\%$ соответственно ($p = 0,0054$).

Ключевые слова: хориоидкарцинома, опухоли сосудистого сплетения, дети, химиотерапия, хирургия

Валиахметова Э.Ф. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 66–74. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-66-74

Choroid plexus carcinoma in children

A.F. Valiakhmetova^{1, 2}, L.I. Papusha¹, A.V. Sanakoeva¹, L.V. Shishkina², O.I. Budanov¹, G.A. Novichkova¹, A.I. Karachunskiy¹

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

²N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery, Moscow

Choroid plexus carcinomas (CPCs) are rare pediatric tumors with a generally poor prognosis. Currently there is no definite optimal treatment strategy for this neoplasm. 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. This study included patients with a verified diagnosis of CPC at the age 0 to 18 years in the period from 01.01.2009 to 31.12.2019. A total of 32 patients were registered. The median age was 2.65 years; 93.5% of CPCs were localized in the lateral ventricles. Initial metastases were found in 21.8% of cases; 5-year event-free survival (EFS) in children with metastases was lower than in those who did not have metastases $29 \pm 17\%$ and $49 \pm 12\%$. In our cohort, gross total resection (GTR) was performed in 65.6% of patients. The five-year EFS in patients with complete CPC removal was higher than in patients who underwent subtotal and partial resection ($63 \pm 13\%$, $12 \pm 11\%$, and 0% , respectively). In addition, overall survival (OS) was slightly higher in those who underwent GTR compared with subtotal and partial resection ($74 \pm 12\%$, $67 \pm 16\%$, and 0% , respectively). Of the 32 children with CPCs, 15 children received program chemotherapy, 17 non-program chemotherapy, 5-year EFS in patients who received program and non-program chemotherapy was $79 \pm 11\%$ and 0% , respectively ($p = 0.0006$), 5-year OS in patients who received program and non-program chemotherapy was $93 \pm 7\%$ and $36 \pm 14\%$ ($p = 0.0054$).

Key words: choroid plexus carcinoma, choroid plexus tumors, children, chemotherapy, surgery

Valiakhmetova A.F., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 66–74. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-66-74

Контактная информация:

Валиахметова Эндже Фаварисовна, младший научный сотрудник отдела оптимизации терапии опухолей центральной нервной системы ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, врач-детский онколог 1-го нейрохирургического отделения ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: andgeval@gmail.com

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 23.10.2020

Accepted 02.02.2021

Correspondence:

Andge F. Valiakhmetova, a junior researcher at the Department of Treatment Optimization for CNS Tumours, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, a pediatric oncologist at the 1st Department of Neurosurgery, N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery of Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia
E-mail: andgeval@gmail.com

Хориоидкарцинома (ХК) – это крайне редкое новообразование, являющееся злокачественным вариантом опухолей сосудистого сплетения (ОСС) головного мозга с агрессивным течением. ОСС составляют 1–4% всех опухолей центральной нервной системы (ЦНС) у детей, ХК составляют от 20 до 40% всех ОСС в этой возрастной

группе [1]. ХК классифицируется Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) 2016 г. как новообразование III степени злокачественности и характеризуется высокой клеточностью, потерей папиллярного роста, некрозами и инвазией в паренхиму головного мозга [2]. ХК чаще всего встречается у пациентов младше 3 лет и располагается в

желудочках головного мозга [3]. Метастатическое поражение при ХК встречается в 20–70% случаев. Влияние метастатического поражения на выживаемость при ХК изучено плохо: есть авторы, продемонстрировавшие ее плохое прогностическое значение, однако есть работы, не подтвердившие влияние метастазов на выживаемость пациентов с ХК [4, 5].

Редкость ХК практически исключает проведение рандомизированных клинических исследований в целях определения оптимальной стратегии терапии. Существующие методы лечения преимущественно основаны на результатах проспективного международного исследования CPT-SIOP-2000, в которое вошли 34 ребенка с ХК [6]. Лечение ХК состоит из максимально возможного хирургического удаления опухоли с последующей адъювантной терапией, включающей химиотерапию (ХТ) и лучевую терапию (ЛТ). Степень резекции является основным прогностическим фактором. Wolff и соавт. в своем метаанализе подчеркнули важность радикальной резекции опухоли, 2-, 5- и 10-летняя общая выживаемость (ОВ) у пациентов с ХК составила 72%, 41% и 35% соответственно [4]. Ретроспективные анализы предполагают увеличение выживаемости у пациентов с ХК при проведении ЛТ, но роль ее всегда обсуждается с учетом отдаленных последствий на развитие головного мозга у младенцев и детей младшего возраста, которые составляют большинство пациентов с ХК [7]. Роль ХТ в лечении ХК остается предметом дискуссий. Редкость ХК создает проблемы для изучения эффективности различных препаратов. На сегодняшний день нет ни определенной эффективной схемы ХТ, ни международного проспективного исследования по оценке эффективности и токсичности различных комбинаций цитостатиков, применяемых при ХК [8–10]. Из-за отсутствия стандартных схем лечения ХК почти все опубликованные на сегодняшний день метаанализы фокусируются только на том, была ли ХТ эффективной, не сообщая, какие цитостатики или комбинации использовались [11, 12].

В отечественной литературе нет обобщенных данных, посвященных лечению ХК. С 2009 г. совместными усилиями научных сотрудников отделения детской нейрохирургии №1 НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко и отдела нейроонкологии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева была собрана и пролечена большая для данной нозологии группа больных. В настоящей работе представлены результаты ретроспективного анализа исходов терапии и выживаемости у детей с ХК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением

ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Пациентов включали в анализ при условии их соответствия следующим критериям:

- гистологический диагноз ХК на основании критериев, изложенных в классификациях ВОЗ опухолей ЦНС (2007, 2016 гг.) [2, 13];
- возраст – от 0 до 18 лет;
- период лечения с 2009 по 2019 г.;
- наличие информированного согласия пациента и/или его родителей/опекунов на проведение данного исследования.

Лечение

Хирургическое удаление

Хирургическое удаление опухоли было первым этапом лечения во всех случаях. Объем оперативного удаления оценивали по протоколу операции и послеоперационной компьютерной (КТ) или магнитно-резонансной (МРТ) томографии (таблица 1). Контрольную послеоперационную МРТ или КТ выполняли в интервале 24–72 ч после операции в связи с тем, что в течение 48 ч после операции накопление контрастного вещества неопухолевой тканью происходит в наименьшей степени, так как гематоэнцефалический барьер поврежден минимально. В более позднем послеоперационном периоде происходит накопление гемосидерина в зоне хирургического вмешательства, и оценка объема оперативного удаления усложняется. Даже в течение этого промежутка времени возможно возникновение ложноположительного контрастного усиления в зоне операции вследствие наличия гемостатического материала, поэтому всегда требуются референс-пересмотр инициальной послеоперационной визуализации совместно специалистом по лучевой диагностике и нейрохирургом, тщательное изучение протокола операции и последующее обсуждение на нейроонкологической междисциплинарной конференции.

Адъювантное лечение

Всем пациентам с ХК вне зависимости от радикальности хирургической резекции было рекомендовано адъювантное лечение.

Химиотерапия

Официальных общепринятых протоколов для лечения ХК на сегодняшний день нет. Негласным стандартом терапии является ХТ в режиме CarbEV, использовавшаяся в проспективном исследовании CPT-SIOP 2000. В нашем исследовании мы приняли этот режим ХТ как основной или программный, состоящий из этопозида, применяемого внутривенно (в/в) капельно в дозе 100 мг/м² с 1-го по 5-й день блока ХТ, винкристина в дозе 1,5 мг/м² в/в болюсно на 5-й день блока и карбоплатина в дозе 350 мг/м² в/в

капельно во 2-й и 3-й дни блока, и общей продолжительностью от 6 до 12 таких циклов, но не менее 5 циклов ХТ.

В то же время непрограммой ХТ считались либо 2–4 цикла CarbEV, либо режим CysEV, состоящий из этопозида (100 мг/м², 1–5-й дни цикла), винкристина (1,5 мг/м² на 5-й день цикла) и циклофосфида (1000 мг/м², 2–3-й дни цикла), либо альтернирующие циклы CarbEV/CysEV по выше указанным схемам, либо режим с высокодозным метотрексатом 5000 мг/м² в течение 24 ч с лейковорином в течение 42 ч в 1-й, 15-й и 29-й дни, либо режим TMZ-IR (темозолomid в дозе 150 мг/м² в день в течение 5 дней перорально в сочетании с иринотеканом в дозе 50 мг/м² в день в течение 5 дней).

Лучевая терапия

При ПУ ХК и отсутствии метастазов проводилась локальная ЛТ в средней очаговой дозе (СОД) до 54 Гр, части пациентов было выполнено краниоспинальное облучение (КСО) в СОД 24 Гр (для пациентов младше 3 лет) или 36 Гр (для детей старше 3 лет) с бустом на ложе опухоли в СОД 55 Гр и бустом на метастазы (если они были) в СОД до 49,6 Гр, протонное КСО до СОД 36 Гр с бустом на ложе опухоли в СОД 54 Гр и бустом на метастатические очаги в СОД 49,6 Гр, а также радиохирургия на аппарате гамма-нож.

Таблица 1

Оценка объема операции с помощью нейрохирургического протокола операции (S) и послеоперационного радиологического обследования (R)

Table 1

Estimation of the volume of surgery using the neurosurgical protocol of the operation (S) and postoperative radiological examination (R)

Параметр Parameter	Радиологический R-критерий Radiological R criterion	Хирургический S-критерий Surgical S criterion
ПУ GTR	R0	S0
СУ SR	R0/R1	S1
	R1	S0
ЧУ PR	R2	S0/S1/S2
Биопсия Biopsy	R3	S3
Оценка объема операции по протоколу с помощью S-критерия Estimation of the volume of surgery according to the protocol of the operation using the S criterion		
S0	Полное удаление Gross total resection	
S1	Резидуальная опухоль < 1,5 см ³ , возможна локальная инвазия Residual tumor < 1.5 cm ³ , possible local invasion	
S2	Резидуальная опухоль > 1,5 см ³ Residual tumor > 1.5 cm ³	
S3	Большая остаточная опухоль (объем операции – биопсия) Large residual tumor (extent of resection – biopsy)	
Оценка объема операции с помощью КТ/МРТ, выполненных в первые 24–48 ч после операции Assessment extent of resection using CT/MRI performed in the first 24–48 hours after surgery		
R0	Нет признаков опухоли No signs of tumor	
R1	Краевой захват контраста (только в месте операции) Edge capture of paramagnetic (only at the site of removal)	
R2	Видимая остаточная опухоль Visible residual tumor	
R3	Нет значительных изменений по сравнению с дооперационными КТ/МРТ No significant changes compared to preoperative CT/MRI	

Примечание. ПУ – полное удаление; СУ – субтотальное удаление; ЧУ – частичное удаление.
Notes. GTR – gross total resection; SR – subtotal resection; PR – partial resection.

Статистический анализ

Статистический анализ данных выполнялся с использованием пакета программ R. Описательная статистика качественных признаков представлена абсолютными и относительными частотами. ОВ была рассчитана от даты постановки диагноза до смерти пациента, независимо от ее причин. Бессобытийная выживаемость (БСВ) была рассчитана от даты постановки диагноза до даты события. Событием после постановки диагноза считались рецидив после достижения полного ответа, появление новых или увеличение в размерах уже существующих метастатических очагов, смерть независимо от ее причин. Сравнение времени до события (ОВ, БСВ) в 2 группах выполнялось с использованием log-rank-теста.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Инициальные характеристики

В период с 1 января 2009 г. по 31 декабря 2019 г. 32 пациентам был верифицирован диагноз «хориоидкарцинома». Медиана возраста составила 2,65 года. Среди пациентов мальчиков оказалось немного больше (56,3%), чем девочек (43,7%). У 17 (53%) человек ХК была диагностирована в возрасте до 3 лет. Инициальные клинические характеристики пациентов с ХК представлены в таблице 2.

Локализация опухоли

В 50% случаев ХК локализовались в правом боковом желудочке, в 43,8% – в левом боковом желудочке. В III желудочке локализовалась 1 (3,1%) ХК и еще 1 (3,1%) ХК – билатерально в боковых желудочках.

Морфологическое исследование

При микроскопическом исследовании материала гистологическая картина во всех случаях была представлена фрагментами злокачественной эпителиальной опухоли, характеризующейся инвазивным ростом в ткань мозга, выраженным ядерным и клеточным полиморфизмом, высоким митотическим индексом: более 5 митозов в 10 полях зрения (рисунки 1А), высокой клеточной плотностью, некротическими изменениями (рисунки 1Б) и практически полной утратой папиллярного строения. В ряде случаев папиллярные структуры были сохранены лишь в отдельных фокусах.

Иммуногистохимическое исследование было проведено во всех наблюдениях. Использовалась широкая панель антител для проведения дифференциального диагноза с атипической хориоидпапилломой, атипической тератоид-рабдоидной опухолью, метастатической карциномой, анапластической эпендимомой, глиобластомой и эмбриональными опухолями. Во всех исследованных случаях отмечалась ядерная экспрессия INI 1. На эпителиальную природу опухоли указывала четко выраженная положительная экспрессия эпителиальных маркеров: СК AE1/3 (рисунок 1В), разной степени интенсивности СК7, в единичных наблюдениях – СК20, в ряде наблюдений – слабо выраженная фокальная экспрессия ЕМА (рисунок 1Г). Протеин S100 в отличие от атипических папиллом сосудистого сплетения был выражен значительно слабее. Еще реже обнаруживалась экспрессия GFAP, лишь в единичных случаях. Индекс Ki-67 был более 15%.

Таблица 2
Инициальные клинические характеристики пациентов с ХК

Table 2
Initial clinical characteristics of patients with CPC

Показатель Indicator	n	%	БСВ, % EFS, %	ОВ, % OS, %
Всего Overall	32	100	44 ± 10	66 ± 10
Пол Sex				
Мальчики Boys	18	56,3	38 ± 18	67 ± 15
Девочки Girls	14	43,7	43 ± 13	64 ± 13
Возраст, годы Age, years				
0–2	12	37,5	73 ± 14	83 ± 14
2–5	13	40,6	18 ± 14	69 ± 16
5–10	5	15,7	40 ± 22	30 ± 24
10–15	1	3,1	100	100
15–18	1	3,1	0	0
Локализация опухоли (желудочки головного мозга) Localization of the tumor (ventricles of the brain)				
Правая боковая Right lateral	16	50	44 ± 14	71 ± 12
Левая боковая Left lateral	14	43,8	40 ± 14	60 ± 14
III	1	3,1	100	100
IV	0	0		
Билатеральная боковая Bilateral	1	3,1	100	100
Метастазы Metastasis				
Нет No	25	78,1	49 ± 12	66 ± 11
Есть Yes	7	21,8	29 ± 17	71 ± 17
Объем хирургического удаления Extent of resection				
ПУ GTR	20	65,6	63 ± 13	74 ± 12
СУ SR	10	28,1	12 ± 11	67 ± 16
ЧУ PR	2	6,25	0	0

Notes. CPC – choroid plexus carcinoma; EFS – event-free survival; OS – overall survival

Метастатическое распространение

Обследование в целях исключения метастазов опухоли было проведено всем пациентам с ХК. В нашей когорте метастатическое распространение заболевания в момент постановки диагноза было зарегистрировано у 7 (21,8%) пациентов с ХК, у 25 (78,1%) детей метастазов изначально не было. Однако еще у 7 детей метастазы появились при прогрессии заболевания.

Объем хирургического удаления и локальный контроль

ПУ опухоли было выполнено в 20 (65,6%) случаях, СУ – в 10 (28,1%), ЧУ – в 2 (6,25%). Протонное КСО до СОД 36 Гр с бустом на метастатические очаги было проведено 2 пациентам: 1 в первой линии терапии и 1 при прогрессии заболевания. Локальную ЛТ в СОД 54 Гр на ложе опухоли получили 7 пациентов, все в первой линии и все живы без рецидива на данный момент. КСО в СОД 36 Гр было назначено 10 паци-

ентам: 6 больным в первой линии лечения (2 пациента без метастазов и 4 ребенка с метастатическим поражением ЦНС, 3 пациента погибли: 2 – от прогрессии заболевания, 1 – от осложнений терапии) и 4 – при прогрессии заболевания (3 пациента погибли и 1 был жив в течение 3 лет от постановки диагноза, но катмнез после этого был утерян). КСО в СОД 24 Гр с бустом на ложе опухоли получили 2 пациента: один изначально, второй при рецидиве заболевания (оба пациента были живы в течение 3 лет от момента постановки диагноза, но катмнез после этого был утерян). И оставшейся пациентке была проведена радиохирurgia на аппарате гамма-нож при рецидиве ХК. Всего 22 пациента с ХК получили ЛТ: 15 пациентов в первой линии, 7 – при рецидиве/прогрессии новообразования.

Осложнения хирургического вмешательства

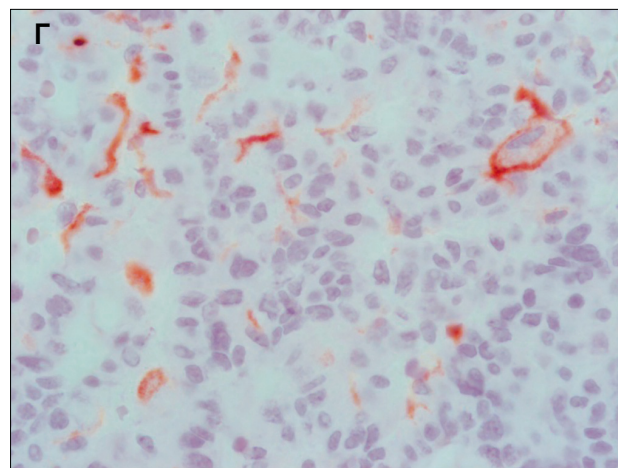
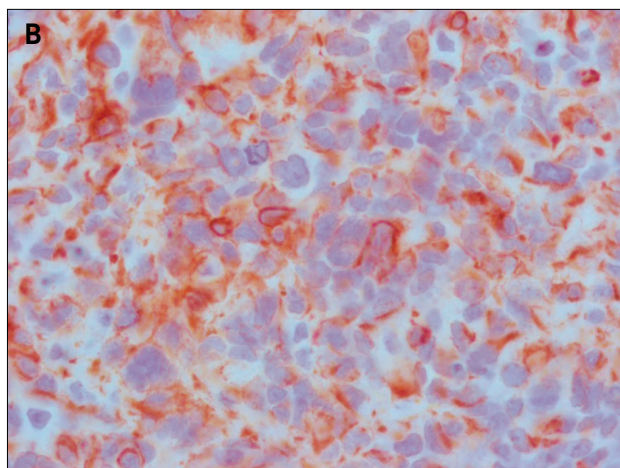
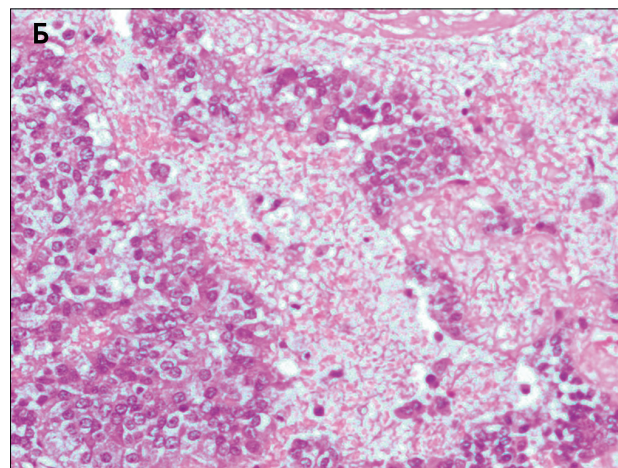
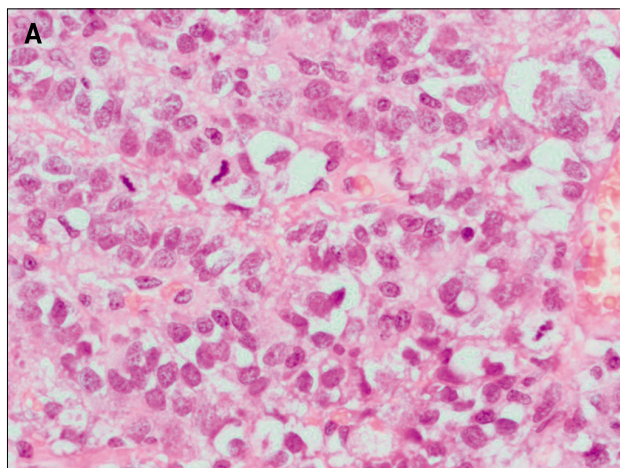
Интраоперационные осложнения, представленные массивной кровопотерей, требующей гемо-

Рисунок 1

А – ХК с выраженным ядерным и клеточным полиморфизмом, высоким митотическим индексом, окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$; Б – очаги некрозов в ткани опухоли, окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$. Иммуногистохимическое исследование: В – выраженная экспрессия Pan CK в клетках опухоли, $\times 400$; Г – в незначительной части опухолевых клеток отмечается слабо позитивная фокальная экспрессия ЕМА, $\times 400$

Figure 1

A – choroid plexus carcinoma with nuclear and cellular polymorphism, high mitotic index, H&E, $\times 400$; Б – foci of necrosis in tumor tissue, H&E, $\times 200$. Immunohistochemical study: B – pronounced expression of Pan CK in tumor cells, $\times 400$; Г – an insignificant part of tumor cells has a weakly positive focal expression of EMA, $\times 400$



трансфузии, были у 8 (25%) пациентов. Селективная церебральная ангиография проведена 3 (9,4%) пациентам, только в 1 случае было доступно выполнение суперселективной эмболизации артерий, питающих опухоль.

В раннем послеоперационном периоде осложнения наблюдались у 8 (25%) пациентов. У 2 (6,25%) детей в связи с формированием послеоперационной гематомы в ложе удаленной опухоли потребовались повторные операции. У 4 (12,5%) больных было отмечено появление неврологического дефицита после операции: гемипареза у 2 (6,25%) детей, тетрапареза и бульбарных нарушений у 1 (3,1%), периферического пареза лицевого нерва и бульбарных нарушений у 1 (3,1%). Прогрессирование гидроцефалии в послеоперационном периоде потребовало проведения вентрикулоперитонеального шунтирования (ВПШ) у 3 (9,4%) пациентов.

Выживаемость

Пятилетняя БСВ и ОВ для пациентов с ХК составили $44 \pm 10\%$ и $66 \pm 10\%$ соответственно. У детей, у которых изначально были метастазы, 5-летняя БСВ оказалась ниже, чем у тех, у кого метастазов изначально не было ($29 \pm 17\%$ и $49 \pm 12\%$ соответственно), а ОВ у детей с метастазами на момент постановки диагноза оказалась немного выше, чем у пациентов без метастатического поражения: $71 \pm 17\%$ и $66 \pm 11\%$ соответственно. Пятилетняя БСВ была выше у пациентов с ПУ по сравнению с СУ и ЧУ опухоли ($63 \pm 13\%$, $12 \pm 11\%$ и 0% соответственно) (рисунок 2). К тому же ОВ была немного выше у тех, кому было выполнено ПУ опухоли по сравнению с СУ и ЧУ ($74 \pm 12\%$, $67 \pm 16\%$ и 0% соответственно).

Из 32 детей с ХК программную ХТ получили 15 детей, непрограммную ХТ – 17, 5-летняя БСВ у пациентов, получивших программную и непрограммную ХТ, составила $79 \pm 11\%$ и 0% соответственно ($p = 0,0006$), 5-летняя ОВ у пациентов, получивших программную и непрограммную ХТ, составила $93 \pm 7\%$ и $36 \pm 14\%$ ($p = 0,0054$) (рисунок 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

ХК – это редчайшая злокачественная опухоль эпителия сосудистого сплетения, которая составляет 0,3–0,6% новообразований головного мозга среди пациентов всех возрастов [1]. В единственном завершеном и проанализированном проспективном международном исследовании CPT-SIOP-2000 было зарегистрировано всего 34 ребенка с ХК [6], в американском исследовании Head Start с 1991 по 2009 г. – 12 детей с ХК [9], в канадском исследовании с 1990 по 2005 г. – 16 пациентов с ХК младше 36 месяцев [14], а по базе данных эпидемиологического надзора

Рисунок 2

БСВ пациентов с ХК в зависимости от объема оперативного вмешательства

Figure 2

EFS of patients with CPC, depending on the extent of resection

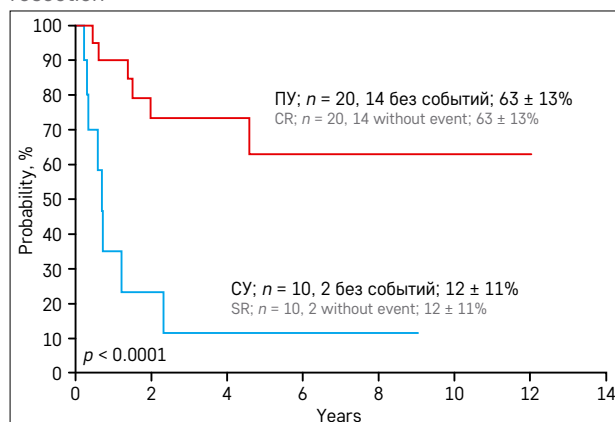
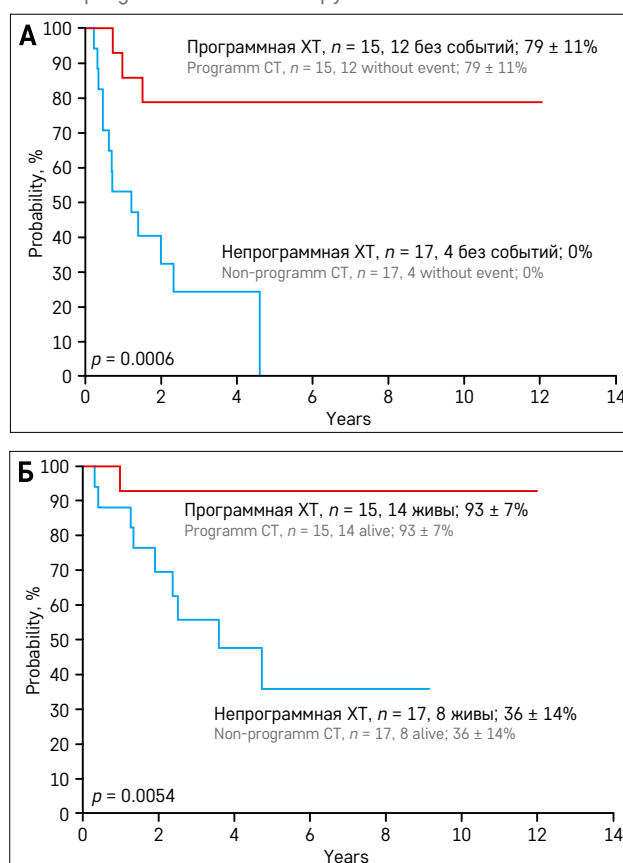


Рисунок 3

БСВ и ОВ пациентов с ХК в зависимости от программной или непрограммной ХТ

Figure 3

EFS and OS of patients with CPC, depending on programm or non-programm chemotherapy



и окончательных результатов (SEER) за период с 1978 по 2009 г., т. е. за 31 год – 120 детей с диагнозом ХК [3]. В нашем исследовании за 10 лет было зарегистрировано 32 пациента с диагнозом ХК, таким образом, наше исследование является вторым по числу пациентов после проспективного исследования CPT-SIOP-2000.

По данным Wrede и соавт., мальчики и девочки заболевают ХК с одинаковой частотой. Медиана возраста на момент постановки диагноза составляет 2,2 года [6], по данным Siegfried и соавт., – 2,11 года [10]. В исследовании Bettgowda и соавт. 57% пациентов с ХК были мальчиками [15]. Согласно нашим данным, медиана возраста составила 2,65 года. Среди пациентов оказалось немного больше мальчиков – 56,3%. В работе Cannon и соавт. диагноз ХК до 3 лет был поставлен 51% пациентов [3]. В нашем исследовании у 53% пациентов ХК была диагностирована в возрасте до 3 лет.

Многие работы сообщают о том, что большинство ОСС, в том числе ХК, встречаются в боковых желудочках, согласно данным CPT-SIOP-2000, в боковых желудочках обнаруживалось 88% ХК [6]. В нашем исследовании 93,5% ХК локализовались в боковых желудочках (50% в правом и 43,8% в левом). Интересно отметить, что в исследовании Bettgowda и соавт. не было пациентов с ХК, локализованных в IV желудочке [15], в нашей группе больных также не было ХК IV желудочка.

Внутрижелудочковая локализация, обильное кровоснабжение, часто большой размер опухоли и небольшой общий объем циркулирующей крови у маленьких пациентов делают хирургическое удаление довольно сложной операцией. По данным различных авторов, радикальную резекцию при ХК удается выполнить в 40–71% случаев [6, 11, 15]. В нашей когорте ПУ опухоли было выполнено 65,6% пациентов. Учитывая обильное кровоснабжение, нередко большой объем опухоли, ее резекция может сопровождаться интраоперационными и постоперационными осложнениями. В работе Hosmann и соавт. из 22 детей с ОСС с доступными анестезиологическими протоколами 5 пациентам было проведено интраоперационное переливание крови, из них 2 детям с ХК. Размеры опухоли достоверно не отличались у пациентов, кому было проведено переливание крови, по сравнению с больными без переливания ($p = 0,14$). Осложнения в раннем послеоперационном периоде включали электролитные нарушения ($n = 2$), диплопию ($n = 1$), парез лицевого нерва ($n = 2$), дисфагию ($n = 2$), атаксию ($n = 2$) и эпидуральную гематому, требующую хирургической эвакуации ($n = 1$) [16]. В нашей когорте 8 (25%) из 32 пациентов была выполнена интраоперационная гемотрансфузия, 2 детям в связи с формированием послеоперационной гематомы потребовались повторные операции. У 4 детей в нашей когорте было отмечено появление неврологического дефицита после операции: гемипареза у 2 детей, тетрапареза и бульбарных нарушений у 1, периферического пареза лицевого нерва и бульбарных нарушений у 1 ребенка. В исследовании Hosmann и соавт. отсро-

ченная установка ВПШ после резекции была выполнена 4 (11,1%) пациентам с ОСС, однако авторы не уточняют гистологические варианты опухоли [16]. В работе Zhou и соавт. после операции 5 пациентам с ОСС было выполнено ВПШ, однако это все больные с хориоидпапилломами, детям с атипическими хориоидпапилломами и ХК после операции не потребовалась установка шунта [17]. В нашей работе прогрессирование гидроцефалии в послеоперационном периоде, потребовавшее установки ВПШ, было у 3 пациентов.

Несмотря на все сложности, которые стоят перед нейрохирургами при удалении ХК, степень резекции является основным прогностическим фактором, который оказывает значительное влияние как на БСВ, так и на ОВ [3, 4, 10, 15]. Packer и соавт. обнаружили, что у 80% пациентов с ХК, которым выполнено ПУ, рецидива заболевания не было, в то время как у 83% больных, перенесших СУ, произошел рецидив [18]. По данным Wrede и соавт., 5-летняя БСВ у пациентов с ПУ и СУ ХК составила 58 и 21% соответственно [19]. Wolff и соавт. также отметили, что радикальность резекции является наиболее важной переменной в лечении, влияющей на долгосрочную выживаемость пациентов с ХК. В своем метаанализе авторы подчеркнули, что 5- и 10-летняя ОВ среди пациентов с ХК были 41% и 35% соответственно [4]. В работе Bettgowda и соавт. 71% пациентов с ХК было выполнено ПУ опухоли. Пятилетняя ОВ для пациентов с ХК составила 71% [15]. В нашем исследовании мы также подтвердили, что радикальность резекции влияла как на БСВ, так и на ОВ. Пятилетняя БСВ у пациентов с ПУ ХК была выше по сравнению с больными, которым было выполнено СУ и ЧУ опухоли ($63 \pm 13\%$, $12 \pm 11\%$ и 0% соответственно). К тому же ОВ была немного выше у тех, кому было выполнено ПУ опухоли по сравнению с СУ и ЧУ ($74 \pm 12\%$, $67 \pm 16\%$ и 0% соответственно).

В проспективном исследовании CPT-SIOP-2000 метастазы при ХК были в 21% случаев [6]. В исследовании Siegfried и соавт. метастазы изначально были у 8 (36,36%) из 22 пациентов с ХК [10]. Метастазы на момент постановки диагноза в нашем исследовании были обнаружены в 21,8% случаев. Влияние метастатического поражения на выживаемость при ХК изучено плохо. Bettgowda и соавт. в своей работе предположили, что наличие метастатического поражения было предиктором рецидива, однако после проведения многофакторного анализа авторы выяснили, что гистологический диагноз и радикальная резекция опухоли остаются независимыми факторами, влияющими на выживаемость [15]. Siegfried и соавт. в своей работе показали, что 5-летняя БСВ для ХК без метастазов и с метастазами составила $46,5 \pm 13,8\%$ и 0% соответственно, а 5-летняя ОВ –

82,1 ± 11,7% и 26,3 ± 21,2% соответственно [10]. В нашей работе у детей с инициальным метастатическим распространением ХК 5-летняя БСВ была ниже, чем у тех, у кого метастазов не было: 29 ± 17% и 49 ± 12% соответственно, а ОВ оказалась немного ниже у пациентов без метастатического поражения: 66 ± 11% и 71 ± 17% соответственно.

Редкость ХК делает сравнение и обсуждение ЛТ и ХТ при ХК трудной задачей из-за различных тактик лечения в различные временные промежутки, опыта использования различных схем ХТ исследовательскими группами. В недавно опубликованном обзоре мы подробно обсуждали различные схемы лечения, в том числе ХТ при ХК [20]. Ряд авторов показали, что послеоперационная химиолучевая терапия улучшает показатели ОВ, несмотря на то, что БСВ остается низкой [10, 19], 2-летняя ОВ у пациентов, которым проводилась ЛТ с ХТ составила 63%, только ХТ – 45%, только ЛТ – 32% и у больных без адъювантной терапии – 15% [19]. Wrede и соавт. в метаанализе показали, что ОВ у детей с ХК, получавших ХТ, выше вне зависимости от проведения ЛТ. Также авторы выявили, что при проведении ХТ ОВ выше у больных, не получавших ЛТ, и у пациентов с СУ опухоли. Кроме того, авторы выяснили, что у детей с СУ опухоли более высокая ОВ при проведении ХТ не зависела от ЛТ [19].

По результатам проспективного международного исследования CPT-SIOP-2000, где было 2 рукава рандомизации (CarbEV и CysEV), значительных различий в показателях выживаемости между ними не было, 5-летняя БСВ и ОВ для ХК были 28% и 36% соответственно [6]. Во втором проспективном международном исследовании OCC CPT-SIOP-2009 было 4 химиотерапевтических рукава рандомизации: стандартный рукав А – альтернирующие циклы CarbEV/CysEV, рукав В D-A-CIP – комбинация доксорубина, цисплатина, актиномицина D и винкристина, рукав С М – высокодозный метотрексат, рукав D TMZ-IR – комбинация темозоломида и иринотекана. Исследование было закрыто досрочно из-за недостаточного набора пациентов. Двухлетние ОВ и БСВ для 12 пациентов с ХК, получавших альтернирующие циклы CarbEV/CysEV в рукаве А при медиане наблюдения 1,7 года, составили 78% и 35% соответственно, что оказалось ниже, чем у больных, получавших неальтернирующие циклы CarbEV (от 6 циклов): 76% и 63% соответственно. Основываясь на этих данных,

авторы не рекомендуют применение альтернирующих циклов CarbEV/CysEV для лечения детей с ХК [21].

В нашем исследовании как внутренний стандарт был принят режим ХТ CarbEV, 6–12 циклов, данную схему получили только половина пациентов. Как БСВ, так и ОВ у детей, получивших программную ХТ, оказались статистически значимо выше. Однако необходимо отметить, что пролить свет на данное расхождение в выживаемости поможет только проспективное рандомизированное исследование со стратификацией в зависимости от молекулярно-генетических маркеров.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нам впервые в отечественной литературе удалось собрать и проанализировать данные большой для данной нозологии группы больных. Пациенты проходили лечение в 2 наиболее высокотехнологичных и опытных центрах. Наше исследование подтверждает, что степень резекции является основным прогностическим фактором для пациентов с ХК. Также у детей в нашем исследовании, получавших программную ХТ (режим CarbEV, 6–12 циклов), как БСВ, так и ОВ оказались статистически значимо выше. Нам не удалось организовать проведение программной ХТ всем детям с ХК. Чтобы ответить на вопрос, что явилось причиной расхождения выживаемости между программной и непрограммной ХТ, необходимы концентрация пациентов в наиболее опытных центрах и проведение проспективных клинических исследований со стратификацией в зависимости от молекулярно-генетических маркеров.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Valiakhmetova A.F. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2977-665X>

Papusha L.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7750-5216>

Sanakoeva A.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5893-0508>

Shishkina L.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7045-7223>

Budanov O.I. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3232-2322>

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

Gorelyshev S.K. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0984-2039>

Karachunskiy A.I. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9300-5198>

Литература

1. Sun M.Z., Oh M.C., Ivan M.E., Kaur G., Safaee M., Kim J.M., et al. Current management of choroid plexus carcinomas. *Neurosurgical Review*. 2014; 37 (2): 179–92. DOI: 10.1007/s10143-013-0499-1
2. Louis D.N., Perry A., Reifenberger G., von Deimling A., Figarella-Branger D., Cavenee W.K., et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol* 2016; 131 (6): 1–18. DOI: 10.1007/s00401-016-1545-1
3. Cannon D.M., Mohindra P., Gondi V., Kruser T.J., Kozak K.R. Choroid plexus tumor epidemiology and outcomes: implications for surgical and radiotherapeutic management. *J Neurooncol* 2015; 121 (1): 151–7. DOI: 10.1007/s11060-014-1616-x
4. Wolff J.E.A., Sajedi M., Brant R., Coppes M.J., Egeler R.M. Choroid plexus tumours. *Br J Cancer*. 2002; 87 (10): 1086–91. DOI: 10.1038/sj.bjc.6600609
5. Meyers S.P., Chuang S.H., Pollack I.F., Korones D.N., Zimmerman R.A. Choroid plexus carcinomas in children: MRI features and patient outcomes. *Neuroradiology* 2004; 46 (9): 770–80. DOI: 10.1007/s00234-004-1238-7
6. Wrede B., Hasselblatt M., Peters O., Thall P.F., Kutluk T., Moghrabi A., et al. Atypical choroid plexus papilloma: Clinical experience in the CPT-SIOP-2000 study. *J Neurooncol* 2009; 95 (3): 383–92. DOI: 10.1007/s11060-009-9936-y
7. Wolff J.E.A., Sajedi M., Coppes M.J., Anderson R.A., Maarten Egeler R. Radiation therapy and survival in choroid plexus carcinoma. *Lancet* 1999; 353 (9170): 2126. DOI: 10.1016/S0140-6736(99)01744-4
8. Gozali A.E., Britt B., Shane L., Gonzalez I., Gilles F., McComb J.G., et al. Choroid Plexus Tumors; Management, Outcome, and Association With the Li–Fraumeni Syndrome: The Children’s Hospital Los Angeles (CHLA) Experience, 1991–2010. *Pediatr Blood Cancer* 2012; 58 (5): 905–9. DOI: 10.1002/pbc
9. Zaky W., Dhall G., Khatua S., Brown R.J., Ginn K.F., Gardner S.L., et al. Choroid Plexus Carcinoma in Children: The Head Start Experience. *Pediatr Blood Cancer* 2015; 62 (5): 784–9. DOI: 10.1002/pbc.27031
10. Siegfried A., Morin S., Munzer C., Delisle M., Gambart M., Puget S., et al. A French retrospective study on clinical outcome in 102 choroid plexus tumors in children. *J Neurooncol* 2017; 135 (1): 151–60. DOI: 10.1007/s11060-017-2561-2
11. Mallick S., Benson R., Melgand W., Rath G.K. Effect of Surgery, Adjuvant Therapy, and Other Prognostic Factors on Choroid Plexus Carcinoma: A Systematic Review and Individual Patient Data Analysis. *Int J Radiat Oncol* 2017; 99 (5): 1199–206. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2017.08.012
12. Sun M.Z., Ivan M.E., Oh M.C., Delance A.R., Clark A.J., Safaee M., et al. Effects of adjuvant chemotherapy and radiation on overall survival in children with choroid plexus carcinoma. *J Neurooncol* 2014; 120 (2): 353–60. DOI: 10.1007/s11060-014-1559-2
13. Louis D.N. WHO classification of tumours of central nervous system. In: Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., Cavenee W.K., Ellison D.W., Branger F.D., et al. (eds.). *International Agency for Research on Cancer. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System*. 4th ed. Lyon: International Agency for Research Centre; 2007. 309 p. DOI: 10.1007/s00401-007-0243-4
14. Lafay-Cousin L., Keene D., Carret A., Fryer C., Larouche V., Silva M., et al. Choroid plexus tumors in children less than 36 months: the Canadian Pediatric Brain Tumor Consortium (CPBTC) experience. *Child’s Nerv Syst* 2011; 27 (2): 259–64. DOI: 10.3171/2010.3.PEDS09354
15. Bettgeowda C., Adogwa O., Mehta V., Chaichana K.L., Weingart J., Carson B.S., et al. Treatment of choroid plexus tumors: a 20-year single institutional experience. *Neurosurg Pediatr*. 2012; 14 (11): 871–82. DOI: 10.3171/2012.8.PEDS12132
16. Hosmann A., Hinker F., Dorfer C., Slavc I., Haberler C., Dieckmann K., et al. Management of choroid plexus tumors — an institutional experience. *Acta Neurochir (Wien)* 2019; 161 (4): 745–54. DOI: 10.1007/s00701-019-03832-5
17. Zhou J.W.L., Wang X., Peng J.Y., Ma S.C., Zhang D.N., Guan X.D., et al. Clinical Features and Prognostic Risk Factors of Choroid Plexus Tumors in Children. *Chinese Med J* 2018; 131 (24): 2938–46. DOI: 10.4103/0366-6999.247195
18. Packer R.J., Perilongo G., Johnson D., Sutton L.N., Vezina G., Zimmerman R.A., et al. Choroid plexus carcinoma of childhood. *Cancer* 1992; 69 (2): 580–5. DOI: 10.1002/1097-0142(19920115)69:2<580::AIDCNCR2820690250>3.0.CO;2-0
19. Wrede B., Liu P., Wolff J.E.A. Chemotherapy improves the survival of patients with choroid plexus carcinoma: A meta-analysis of individual cases with choroid plexus tumors. *J Neurooncol* 2007; 85 (3): 345–51. DOI: 10.1007/s11060-007-9428-x
20. Валиахметова Э.Ф., Пануша Л.И., Ясько Л.А., Друй А.Е., Горелышев С.К., Карачунский А.И. Хориоидкарциномы у детей: обзор литературы. *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2020; 7 (1): 51–61. DOI: 10.21682/2311-1267-2020-7-1-51-61
21. Bahar M., Dhir A., Kordes U., Wolff J. Intercontinental multidisciplinary data collection and treatment optimization study for patients with choroid plexus tumor. *Neuro-Oncology* 2015; 17 (suppl 5): v186. DOI: 10.1093/neuonc/nov229.01

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 28.10.2020
Принята к печати 02.02.2021

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-76-90

Рабдомиосаркома у детей первого года жизни. Опыт ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Т.В. Страдомская¹, Д.Ю. Качанов¹, Н.С. Грачев¹, А.В. Нечеснюк¹, М.В. Телешова¹, Д.Г. Ахаладзе¹, С.Р. Талыпов¹, Т.В. Шаманская¹, С.Р. Варфоломеева², Г.А. Новичкова¹

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

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Контактная информация:
Страдомская Татьяна Валерьевна,
врач-детский онколог отделения
клинической онкологии
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия
Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: stv-sergeeva@mail.ru

Рабдомиосаркома (РМС) – наиболее частая саркома мягких тканей у детей от 0 до 14 лет. РМС редко встречается у детей первого года жизни. По литературным данным, возраст младше 12 месяцев рассматривается как неблагоприятный прогностический фактор, что может быть обусловлено невозможностью проведения всего объема мультимодальной терапии и адекватного локального контроля. Целью настоящего исследования явился анализ результатов лечения детей первого года жизни, страдающих РМС, получавших лечение в условиях ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России за период с 02.2012 по 05.2018 (75 мес). Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В исследование вошли 13 пациентов. Медиана возраста больных на момент постановки диагноза составила 6,7 (разброс 0,23–11,9) месяца. У 2 (15%) пациентов опухоль выявлена пренатально на 32-й и 33-й неделях гестации. У 2 (15%) диагноз установлен в течение первого месяца жизни. Соотношение мальчики:девочки составило 1,1:1. У 8 (61,5%) больных размеры опухоли были более 5 см на момент постановки диагноза. Медиана объема опухоли составила 24 (разброс 0,001–150) см³. Распределение по локализации: область головы и шеи ($n = 4$; 31,5%), малый таз ($n = 3$; 23%), конечности ($n = 3$; 23%), мочеполовая система ($n = 2$; 15%), другие ($n = 1$; 7,5%). Распределение пациентов согласно постоперационной классификации IRS: III ($n = 12$; 92,5%), IV ($n = 1$; 7,5%). У 12/13 (92,5%) больных диагностирована локализованная форма заболевания. У 1/13 (7,5%) пациента отмечено поражение подкожно-жировой клетчатки, плевры, корней обоих легких, поджелудочной железы, костного мозга. Поражение регионарных лимфатических узлов диагностировано у 1 (7,5%) пациента с локализацией опухоли в области головы и шеи. Инициальный объем оперативного вмешательства в целях постановки диагноза носил характер биопсии у 8/13 (61,5%) больных, R2-резекции – у 5/13 (38,5%). Распределение по гистологическому типу: эмбриональная РМС выявлена у 6 (46%) пациентов, альвеолярная РМС – у 6 (46%), у 1 (7,5%) – веретенноклеточная РМС. У 4/6 пациентов с альвеолярной РМС выявлена перестройка гена *FOXO1*. Распределение пациентов на группы риска: 11/13 (85%) больных – группа высокого риска, 1/13 (7,5%) – очень высокого риска, 1/13 (7,5%) – группа с инициальными метастазами. Терапию по схеме IVA получали 11/13 (85%) пациентов, по схеме IVADO – 1/13 (7,5%), по схеме CEVAIE – 1/13 (7,5%). Терапия по схеме VAC проводилась 3/13 (23%) пациентам до достижения ими 3-месячного возраста. Расчет доз химиопрепаратов всем пациентам осуществлялся на килограмм массы тела. Локальный контроль проведен 11/13 (85%) пациентам, он включал: только оперативное лечение у 7/13 (54%), только дистанционную лучевую терапию (ДЛТ) – у 1/13 (7,5%), ДЛТ и операцию – у 1/13 (7,5%), только брахитерапия проведена 1/13 (7,5%), брахитерапия и операция – 1/13 (7,5%) пациенту. Локальный контроль не проводили 2/13 (15%) пациентам: у одного больного с благоприятной локализацией (влагалище) РМС достигнут полный ответ на полихимиотерапию (ПХТ), другой ребенок – с диссеминированной формой заболевания (множественные метастазы в подкожно-жировую клетчатку (blueberry muffin syndrome) в дебюте заболевания) ввиду отсутствия субстрата первичной опухоли и санации метастатических очагов на фоне ПХТ. Всем пациентам ДЛТ и брахитерапия проведена в возрасте старше 1 года. ДЛТ проведена 2/13 (15%) пациентам в суммарной очаговой дозе 50,4 и 51,2 Гр, брахитерапия ($n = 2$) в СОД 36 Гр. Возраст на момент проведения ДЛТ – 21,1 и 13,37 месяца, брахитерапии – 12,4 и 14,5 месяца. Second-look-операция выполнена 9/13 (69%) пациентам в объеме: R0-резекции ($n = 7$), R1 ($n = 1$), R2 ($n = 1$). У 2/9 больных проведены оргоуносящие операции в объеме экзентерации орбиты, цистпростатэктомии. Индукционная терапия завершена у 12/13 (92,5%) пациентов. Медиана наблюдения за живущими пациентами составила 42,7 (разброс 3,7–90) мес. Исход наблюдения: 8 (61,5%) пациентов живы, 5 (38,5%) – умерли. На момент написания настоящей статьи 8/13 (61,5%) больных находятся под динамическим наблюдением: 6/8 без прогрессии/рецидива, 2/8 в ремиссии после терапии локального рецидива и прогрессии. Трехлетняя общая выживаемость составила 68,4% (95% доверительный интервал 42,6–94,1). Трехлетняя бессобытийная выживаемость – 46,2% (95% доверительный интервал 19,1–73,3). Полученные в настоящем исследовании данные согласуются с результатами международных кооперативных исследований и позволяют рассматривать возраст пациентов с РМС менее 1 года как неблагоприятный прогностический фактор в основном за счет невозможности выполнения всего объема междисциплинарного подхода в терапии.

Ключевые слова: дети, рабдомиосаркома, хирургия, лучевая терапия, неонатология

Страдомская Т.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 76–90. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-76-90

Rhabdomyosarcoma in the first year of life. Experience of Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology

T.V. Stradomskaya¹, D.Yu. Kachanov¹, N.S. Grachev¹, A.V. Nechesnyuk¹, M.V. Teleshova¹, D.G. Akhaladze¹, S.R. Talypov¹, T.V. Shamanskaya¹, S.R. Varfolomeeva², G.A. Novichkova¹

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

²N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Rhabdomyosarcoma (RMS) is the most common soft tissue sarcoma in childhood, but is very rare in infants. RMS diagnosed during the first year of life is reported to have poor outcome. The aim of the study was to analyze the results of therapy of RMS in the first year of life treated in federal center in Russian Federation. 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. All prospectively registered patients with RMS in infants treated during the period 02.2012–05.2018 (75 month) were included. Diagnosis was confirmed by histology. All patients were examined and stratified according to the GPOH Cooperative Weichteilsarkom Study (CWS) Group guidance 2009. 13 prospectively registered patients with RMS in infants treated during the period were included. Median age at initial diagnosis was 6.7 (range 0.23–11.9) months. The tumor was detected prenatally at 32 and 33 weeks of gestation in 2 (15%) patients. The age of these patients was ≤ 1 month in 2 of 13 patients. Tumor size was ≤ 5 cm in 8 (61.5%) of 13 patients. Median volume tumor was 24 (range 0.001–150) ml. The primary site was head and neck ($n = 4$; 31.5%), pelvis ($n = 3$; 23%), extremities ($n = 3$; 23%), genitourinary system ($n = 2$; 15%), other ($n = 1$; 7.5%). IRS stage distribution was stage III in 12 (92.5%) patients, stage IV – 1 (7.5%). Regional nodal metastasis (N1) occurred in 1 (7.5%) patient with tumor of the head and neck nonparameningeal. Distant metastasis occurred in 1 (7.5%) patient and the site of spread was subcutaneous fat (blueberry muffin syndrome), pleura, roots of both lungs, pancreas, bone marrow. Histology of these infants was RMA ($n = 6$; 46%), RME ($n = 6$; 46%) and spindle-cell RMS ($n = 1$; 7.5%). The *FOXO1*-fusion positive status was found in 4/6 patients RMA by fluorescence *in situ* hybridization (FISH). 11/13 (85%) patients were categorized as high risk, 1/13 (7.5%) as very high risk, 1/13 (7.5%) – treatment for stage IV patients with metastatic disease. All patients ($n = 13$; 100%) received chemotherapy according to CWS guidance 2009 protocol. All patients were administered at a reduced dose according to body weight. The distribution of treatment regimens was as follows: 11/13 (85%) – IVA, 1/13 (7.5%) – IVADO, 1/13 (7.5%) – CEVAIE. 3/13 patients aged less than 1 month was administered chemotherapy according to VAC. Initial surgery included biopsy in 8/13, surgery – 5/13 (R2 – resection). Local control was provided in 11/13 (85%) patients: only surgery in 7/13 (54%) patients, only radiotherapy in 1/13 (7.5%), radiotherapy and surgery 1/13 (7.5%), only brachytherapy 1/13 (7.5%), brachytherapy and surgery in 1/13 (7.5%). 2/13 patients were not local control: one patient with favorable site (vagina) and one patient with stage IV that showed complete response after chemotherapy in both cases. Radiotherapy including brachytherapy was administered of the all patients at the over 1 year. Radiotherapy was used in 2 of 13 patients (dose range 50.4 Gy and 51.2 Gy), brachytherapy – 36 Gy. At the start of the radiotherapy the age was 21.1 and 13.37 months, brachytherapy – 12.4 and 14.5 months. Second-look surgery was performed in 9/13 (69%) patients: R0 ($n = 7$), R1 ($n = 1$), R2 ($n = 1$). 2/9 patients were performed mutilating surgery: orbital exenteration and cystectomy. Induction therapy was completed in 12 (92.5%) of 13 patients. Median follow-up time was 42.7 (range 3.7–90) months. 8 patients were alive, 5 died. 8/13 patients whom alive were observation: 6/8 patients no relapse/progressive, 2/8 patients – remission after local relapse and progression. 3-year overall survival was 68.4% (95% confidence interval 42.6–94.1. 3-year event-free survival was 46.2% (95% confidence interval 19.1–73.3). Patients aged less than 1 year are particularly problematic. The relatively low event-free survival rate in this age group is associated with the impossibility of carrying out the entire volume of multimodal therapy and required a tailored therapeutic approach.

Key words: children, rhabdomyosarcoma, surgery, radiation therapy, neonatology

Stradomskaya T.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 76–90.

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-76-90

Рабдомиосаркома (РМС) – наиболее частая саркома мягких тканей (СМТ) в первые два десятилетия жизни. РМС редко встречается у детей первого года жизни в сравнении с другими возрастными группами. В 5–10% случаев РМС диагностируется у детей первого года жизни и в 0,4–2% случаев может иметь врожденный характер [1–4]. Терапия пациентов первого года жизни, страдающих РМС, отличается от лечения других возрастных групп и требует модификаций, связанных с высокими рисками развития острых и отдаленных последствий химио- и лучевой терапии. Исследования международных кооперированных групп продемонстрировали негативное влияние возраста младше 1 года на прогноз заболевания [4–7]. Так, по данным Немецкой группы по изучению СМТ, 5-летняя общая (ОВ) и бессобытийная (БСВ) выживаемость для пациентов с локализованными стадиями составляет 69% и 51% соответственно [5].

Учитывая литературные данные, мы проанализировали собственный опыт лечения данной когорты больных. В настоящей статье представлены резуль-

таты лечения пациентов первого года жизни, страдающих РМС, получавших лечение по протоколу Немецкого общества детских гематологов/онкологов CWS guidance, версия 2009 в условиях ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. За период с февраля 2012 г. по май 2018 г. (75 мес) в отделении клинической онкологии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева получили лечение 117 пациентов, страдающих РМС. Критериями включения в настоящее исследование являлись: возраст менее 12 месяцев, гистологически верифицированный диагноз РМС, программная терапия по протоколу CWS guidance, версия 2009 [2]. В исследование были включены 13 (11%) пациентов первого года жизни с гистологически верифициро-

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 28.10.2020

Accepted 02.02.2021

Correspondence:

Tatyana V. Stradomskaya, a pediatric oncologist at the Department of Clinical Oncology, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia
E-mail: stv-sergeeva@mail.ru

ванным диагнозом РМС, получавших программную терапию. Все пациенты были обследованы и стратифицированы согласно стандартам протокола лечения CMT CWS guidance, версия 2009 [2].

При инициальной диагностике проводили сбор анамнестических данных, клиническое обследование, лабораторные, инструментальные, молекулярно-биологические методы исследования, гистологическое исследование, цитологическое исследование костного мозга. Объем рентгенологических и инструментальных методов исследования включал рентгенографию органов грудной клетки, магнитно-резонансную томографию (МРТ) пораженной области, компьютерную томографию (КТ) органов грудной клетки и брюшной полости, остеосцинтиграфию с бифосфонатами, мечеными ^{99m}Tc . Исследования проводили в целях определения анатомической локализации опухоли, ее инициальных размеров, взаимосвязи с окружающими органами и тканями и исключения метастатического поражения других органов и систем. Ультразвуковые методы исследования (УЗИ), такие как УЗИ сердца, головного мозга, позволяли выявить сопутствующую патологию центральной нервной (ЦНС) и сердечно-сосудистой систем, проведение вызванных слуховых и зрительных потенциалов позволяло определить функцию слухового и зрительного анализатора при локализации опухоли в области головы и шеи. Костномозговые пункции проводились из четырех точек, чаще всего это были эпифиз большеберцовых костей и пяточные кости, в редких случаях – гребни подвздошных костей. Спинномозговую пункцию с последующим цитологическим исследованием ликвора выполняли при наличии интракраниального распространения опухоли.

Проводилась оценка инициального объема операции по следующим критериям: биопсия, радикальное удаление опухоли в объеме R0-резекции (микроскопически негативные края резекции), удаление опухоли в объеме R1-резекции (макроскопически удаленная опухоль с гистологически подтвержденными позитивными краями), R2-резекция (нерадикальное удаление опухоли с макроскопически остаточной опухолью). Инициальный объем операции в целях верификации диагноза включал биопсию опухоли. У части пациентов с инициальным оперативным этапом в стационаре региона проживания проведена попытка удаления опухоли (R1/R2-резекция).

Диагноз устанавливался на основании гистологического исследования ткани первичной опухоли. У пациентов с альвеолярной РМС проводилась оценка реаранжировок гена *FOXO1* методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization, FISH).

Для стратификации пациентов на группы риска использовались критерии Европейской группы по оптимизации лечения CMT у детей (European Pediatric Soft Tissue Sarcoma Study Group, EPSSG) и Немецкой группы по лечению CMT у детей (Cooperative Weichteilsarkom Study, CWS) Немецкого общества детских онкологов и гематологов (Group for Pediatric Oncology and Hematology, GPOH) [2]. Стратификация пациентов на группы риска проводилась согласно протоколу лечения, учитывая гистологический тип РМС, локализацию, инициальные размеры опухоли, возраст на момент постановки диагноза, постхирургическую стадию согласно Intergroup Rhabdomyosarcoma Study (IRS), наличие отдаленных метастазов и поражения регионарных лимфатических узлов [2]. Критерии стратификации были подробно описаны ранее [8, 9].

Системная химиотерапия проводилась всем пациентам согласно группе риска в объеме 9 курсов полихимиотерапии (ПХТ). Схемы химиотерапии подробно представлены в работе Т.В. Сергеевой с соавт. (2018) [8]. Расчет доз всех химиопрепаратов проводился на килограмм массы тела ребенка (таблица 1). Пациенты в возрасте младше 3 месяцев получали ПХТ по схеме VAC (винкристин, актиномицин, циклофосфамид). Первый курс проводился с редукцией доз химиопрепаратов на 30%, далее при удовлетворительной переносимости курсы ПХТ продолжались без дополнительной редукции.

После 3 курсов ПХТ выполнялась оценка ответа на проведенную терапию и определялась тактика локального контроля. Повторное инструментальное исследование (КТ или МРТ) позволяло оценить объем сокращения опухоли, взаимосвязь с окружающими органами и тканями. Повторные исследования в объеме КТ органов грудной клетки и брюшной полости, костномозговых пункций из четырех точек проводились у пациентов с выявленными метастатическими очагами на инициальном этапе в целях оценки динамики со стороны метастатических очагов и подтверждения их санации.

Тактика локального контроля определялась совокупностью факторов, включающих возраст на момент постановки диагноза и на момент проведения локального контроля, гистологический тип опухоли, объем инициального оперативного вмешательства, ответ на проведенную терапию, локализацию опухоли, степень сохранения функции пораженного органа, резектабельность образования без калечащих последствий. В большинстве случаев предпочтение отдавалось оперативному этапу лечения. Объем отсроченной операции оценивался по приведенным выше критериям (R0/R1/R2).

Лучевая терапия проводилась в дозах, предусмотренных протоколом лечения у пациентов старше

1 года при невозможности радикального удаления опухоли. Окончательное решение об объеме и методе локального контроля принималось на междисциплинарных конференциях с участием врачей – детских онкологов, лучевых терапевтов, рентгенологов и детских хирургов.

Для хранения данных и проведения первичной обработки использовалась база данных в программе Excel Microsoft Office 2010. Статистический анализ выполнялся при помощи программы XLSTAT. Для описания количественных данных использовались абсолютные значения признака и проценты, для описания количественных непрерывных данных – медиана и среднее арифметическое значение. Для оценки выживаемости использовался метод Каплана–Майера. Для сравнения кривых – непараметрический log-rank-критерий. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$ (двусторонний тест).

Оценка выживаемости проводилась по состоянию на 01.02.2020. ОВ оценивалась как время, прошедшее с момента постановки диагноза РМС до смерти пациента от любых причин или до последнего наблюдения за больным. БСВ – как время, прошедшее с момента постановки диагноза РМС до неблагоприятного события, под которым понимались прогрессия, рецидив (в случае достижения полного ответа), развитие вторичной злокачественной опухоли, смерть от любой причины, или даты последнего наблюдения за пациентом.

На момент проведения исследования все авторы настоящей публикации являлись сотрудниками ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование вошли 13 пациентов первого года жизни, страдающих РМС. Медиана возраста на момент постановки диагноза составила 6,7 (разброс 0,23–11,9) месяца. У 2 (15%) пациентов опухоль выявлена пренатально на 32-й и 33-й неделях гестации. У 2 (15%) больных диагноз установлен в первый месяц жизни. Соотношение мальчики:девочки составило 1,1:1.

Детальная характеристика группы пациентов с учетом пола, возраста, гистологического типа РМС, локализации первичной опухоли, классификации по системе TNM, клинической группы по IRS, объема первичной опухоли, инициальной и second-look-операций и локального контроля, суммарной очаговой дозы (СОД) дистанционной лучевой терапии (ДЛТ) и брахитерапии, периода наблюдения, исхода заболевания представлена в таблице 2.

Распределение по локализации первичной опухоли: область головы и шеи ($n = 4$; 31,5%), в том числе непараменингеально ($n = 2$; 50%), параменингеально ($n = 1$; 25%), орбита ($n = 1$; 25%), малый таз ($n = 3$; 23%), конечности ($n = 3$; 23%), мочепо-

Таблица 1

Редукция доз химиопрепаратов в зависимости от возраста у пациентов первого года жизни, согласно рекомендациям протокола CWS [2]

Table 1

Chemotherapy dose reduction based on the age for patients in the first year of life, according to the CWS protocol [2]

Возраст, месяцы Age, months	Препараты и расчет доз ПХТ Chemotherapy drugs and dose calculations	Курсы ПХТ Polychemotherapy courses
0–3	1. Расчет доз на 1 кг массы тела с их дополнительной редукцией на 1/3 2. Расчет дозы циклофосфида на 1 кг массы тела в дозе 20 мг/кг без дополнительной редукции 3. Ифосфамид не вводится 4. Антрациклины не вводятся 1. Doses are calculated by body weight, additional 1/3 dose reduction 2. Cyclophosphamide is calculated by body weight, at a dose of 20 mg/kg, without any additional reduction 3. Ifosfamide is not administered 4. Anthracyclines are not administered	VA или VAC VA or VAC
> 3 – ≤ 6	1. Расчет доз на 1 кг массы тела с их дополнительной редукцией на 1/3 в первом курсе ПХТ 2. При удовлетворительной переносимости последующие курсы проводятся без редукции доз 1. Doses are calculated by body weight, additional 1/3 dose reduction during the first course of chemotherapy 2. If well tolerated, no further reduction is required	VA, IVA или VAIA (в зависимости от группы риска) VA, IVA or VAIA (depending on risk group)
> 6 – ≤ 12 (или вес ≤ 10 кг) > 6 – ≤ 12 (or weight ≤ 10 kg)	1. Расчет доз на 1 кг массы тела 2. Дополнительная редукция на 1/3 не проводится 1. Doses are calculated by body weight 2. No additional 1/3 dose reduction	VA, IVA или VAIA (в зависимости от группы риска) VA, IVA or VAIA (depending on risk group)
> 12 (и вес > 10 кг) > 12 (and weight > 10 kg)	1. Расчет доз в соответствии с площадью тела (на 1 м ²) 2. Дополнительная редукция на 1/3 не проводится 3. В случае возраста > 12 месяцев, но при весе менее 10 кг расчет доз ПХТ проводится на 1 кг массы тела 1. Doses are calculated by body surface area, m ² 2. No additional 1/3 dose reduction 3. In patients > 12 months, but < 10 kg, doses are calculated by body weight	VA, IVA или VAIA (в зависимости от группы риска) VA, IVA or VAIA (depending on risk group)

Примечание. Курс VAC – винкристин, актиномицин D, циклофосфамид; курс VA – винкристин, актиномицин D; курс IVA – винкристин, актиномицин D, ифосфамид; курс VAIA – винкристин, актиномицин D, ифосфамид, доксорубин

Note. VAC course – vincristine, actinomycin D, cyclophosphamide; VA course – vincristine, actinomycin D; IVA course – vincristine, actinomycin D, ifosfamide; VAIA course – vincristine, actinomycin D, ifosfamide, doxorubicin

Таблица 2

Характеристика пациентов, вошедших в исследование

Table 2

The characteristics of patients included in the study

№	Пол Sex	Возраст, месяцы* Age, months*	Гистология Histology	Локализация Site	TNM	IRS	Инициальный объем опухоли (см³) Initial tumor volume (cm³)	Первичная операция Initial surgery	Терапия Therapy	Локальный контроль Local control	Second-look-операция Second-look surgery	Лучевая терапия (Гр), воз- раст на момент проведения Radiation therapy (Gy), age at radiation therapy	Исход Outcome	Период наблюдения, мес Duration of follow-up, months
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	Жен- ский Female	0,23	Альвео- лярная РМС FOXO1+ Alveolar RMS FOXO1+	Голова/ шея (пара- менин- геально) Head/ neck (parame- ningeal)	T2bN1M0	III	150	Биопсия Biopsy	VAC №5 + IVA №2 (редукция 30%) + R0 5 cycles of VAC + 2 cycles of IVA (a 30% reduction) + R0	Опера- ция Surgery	R0	Нет No	Смерть, полиор- ганная недоста- точность Death, multiorgan failure	3,73
2	Муж- ской Male	0,33	Эмбрио- нальная РМС Embryonal RMS	Мо- чевой пузырь Urinary bladder	T2bN0M0	III	142	Биопсия Biopsy	VA №9 + R0 9 cycles of VA + R0	Опера- ция Surgery	R0 (цистпро- статэкто- мия) R0 (cyst prostatec- tomy)	Нет No	Жив, без со- бытия Alive, event-free	90,03
3	Жен- ский Female	1,26	Эмбрио- нальная РМС Embryonal RMS	Тулови- ще Trunk	T1aN0M0	III	12,5	R2	IVA №4 + вторая линия №6 + R0 4 cycles of IVA + 6 cycles of second-line therapy + R0	Опера- ция Surgery	R0	Нет No	Жив, без со- бытия Alive, event-free	84,4
4	Муж- ской Male	9,6	Эмбрио- нальная РМС Embryonal RMS	Малый таз Lesser pelvis	T2bN0M0	III	68	Биопсия Biopsy	VAC №9 + R0 9 cycles of VAC + R0	Опера- ция Surgery	R0	Нет No	Жив, без со- бытия Alive, event-free	75,2
5	Жен- ский Female	6,7	Альвео- лярная РМС FOXO1+ Alveolar RMS FOXO1+	Голова/ шея (пара- менин- геально) Head/ neck (parame- ningeal)	T2aN0M0	III	11,4	Биопсия Biopsy	IVA №9 + ДЛТ 9 cycles of IVA + external radiation therapy	ДЛТ External radiation therapy	Нет No	51,2 (13,3) месяца 51.2 (13.3) months	Смерть, локаль- ный ре- цидив Death, lo- cal relapse	46,5
6	Муж- ской Male	11,9	Альвео- лярная РМС FOXO1+ Alveolar RMS FOXO1+	Конеч- ность Extremity	T2bN0M0	III	21	R2	IVA №9 + R1 + ДЛТ 9 cycles of IVA + R1 + external radiation therapy	Опера- ция + ДЛТ Surgery + external radiation therapy	R1	50,4 (21,1) месяца 50.4 (21.1) months	Смерть, локаль- ный ре- цидив Death, lo- cal relapse	34,23
7	Жен- ский Female	11,3	Альвео- лярная РМС FOXO1- Alveolar RMS FOXO1-	Орбита Orbit	T2aN0M0	III	11	Биопсия Biopsy	IVA №9 + R0 9 cycles of IVA + surgery	Опера- ция Surgery	R0 (экзен- терация орбиты) R0 (exen- teration of the orbit)	Нет No	Жив, без со- бытия Alive, event-free	60,2
8	Муж- ской Male	6,03	Эмбрио- нальная РМС Embryonal RMS	Малый таз Lesser pelvis	T2bN0M0	III	149	R2	IVA №10 + брахите- рапия 10 cycles of IVA + brachytherapy	Брахите- рапия Brachy- therapy	Нет No	36 (12,4) месяцев 36 (12.4) months	Жив, без со- бытия Alive, event-free	43,1
9	Жен- ский Female	8,63	Эмбрио- нальная РМС Embryonal RMS	Малый таз Lesser pelvis	T2bN0M0	III	53	Биопсия Biopsy	IVA №3 + прогрессия + вторая линия №6 + R0 + брахите- рапия + метрономная терапия 3 cycles of IVA + progression + 6 cycles of second-line therapy + R0 + brachytherapy + metronomic therapy	Опера- ция + брахи- терапия Surgery + brachy- therapy	R0	36 (14,5) месяцев 36 (14.5) months	Жив по- сле про- грессии Alive, after progres- sion	42,7

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
10	Женский Female	5,6	Эмбриональная РМС Embryonal RMS	Влагалище Vagina	T1aN0M0	III	0,0001	R2	IVA №9 9 cycles of IVA	Нет No	Нет No	Нет No	Жив, без события Alive, event-free	39
11	Мужской Male	1,5	Альвеолярная РМС FOXO1– Alveolar RMS FOXO1–	Конечность Extremity	T2bN0M1	IV	24	Биопсия Biopsy	VAC №3 + CEVAIE №6 + метрономная терапия №6 3 cycles of VAC + 6 cycles of CEVAIE + 6 cycles of metronomic therapy	Нет No	Нет No	Нет No	Смерть, ранний изолированный рецидив в ЦНС Death, early isolated relapse in the CNS	28,0
12	Мужской Male	11,6	Веретеноклеточная РМС Spindle cell RMS	Конечность Extremity	T2bN0M0	III	61	Биопсия Biopsy	IVA №9 + R0 9 cycles of IVA + R0	Операция Surgery	R0	Нет No	Жив, после раннего локального рецидива Alive, after early local relapse	28,3
13	Мужской Male	3,5	Альвеолярная РМС FOXO1+ Alveolar RMS FOXO1+	Голова/шея (параменингеально) Head/neck (paraneural)	T2aN0M0	III	9	R2	IVA №3 + прогрессия + вторая линия №2 + прогрессия + третья линия №6 + R2 + метрономная терапия 3 cycles of IVA + progression + 2 cycles of second-line therapy + progression + 6 cycles of third-line therapy + R2 + metronomic therapy	Операция Surgery	R2	Нет No	Смерть, прогрессия на 1-й и 2-й линии терапии Death, progression during 1 st - and 2 nd -line therapy	20,8

ловая система ($n = 2$; 15%), туловище ($n = 1$; 7,5%). При анализе размеров первичной опухоли на момент постановки диагноза у 8 (61,5%) из 13 больных она была более 5 см. Медиана объема первичной опухоли составила 24 (разброс 0,001–150) см³. У 12/13 (92,5%) пациентов отсутствовали отдаленные метастазы на момент постановки диагноза. У 1 больного отмечено поражение подкожно-жировой клетчатки (ПЖК), плевры, корней обоих легких, поджелудочной железы, костного мозга. Клинически картина метастазов в ПЖК у этого пациента с альвеолярной РМС соответствовала кожному синдрому «черничного пирога» (blueberry muffin syndrome) [10]. Поражение регионарных лимфатических узлов отмечено у 1/13 (7,5%) больного с локализацией первичной опухоли в области головы и шеи.

В целях верификации диагноза проведена биопсия образования у 8/13 (61,5%) пациентов, попытка хирургического удаления опухоли – у 5/13 (38,5%) (рисунки 1 и 2).

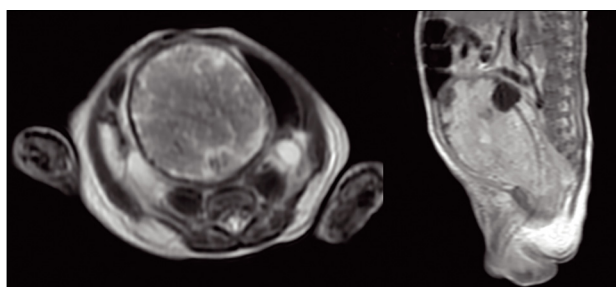
Всем пациентам (100%) диагноз был установлен на основании гистологического исследования ткани опухоли. При распределении по гистологическим подтипам выявлено, что эмбриональная РМС диагностирована у 6/13 (46%) пациентов, альвеолярная РМС – у 6/13 (46%), у 1/13 (7,5%) больного – веретеноклеточная РМС. У 4/6 (66,6%) пациентов с альвеолярной

Рисунок 1

МР-картина врожденной опухоли мочевого пузыря пациента №2, у которого в дебюте заболевания отмечено развитие острой почечной недостаточности ввиду обструкции опухолью мочевыводящих путей

Figure 1

An MRI pattern of the congenital tumor of the urinary bladder in patient No.2, who developed acute renal failure at disease onset due to urinary tract obstruction caused by the tumor



РМС выявлена перестройка гена *FOXO1* при цитогенетическом исследовании ткани опухоли методом FISH.

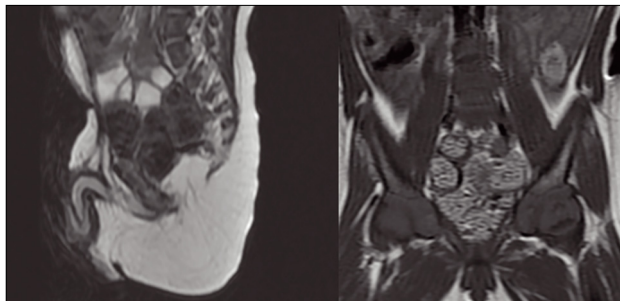
Распределение по клиническим группам согласно постоперационной классификации IRS было следующим: III ($n = 12$; 92,5%), IV ($n = 1$; 7,5%). Всем больным проведена химиотерапия в полном объеме (9 курсов) в соответствии с группой риска: 11/13 (85%) пациентов получали терапию в рамках группы высокого риска (схема IVA, в 2 случаях требовалась модификация терапии с отказом от ифосфамида или его заменой на циклофосфамид), 1/13 (7,5%)

Рисунок 2

MP-картина пациента №2 после завершения программной терапии, включающей 9 курсов ПХТ и цистпростатэктомию

Figure 2

MRI scans of patient No.2 after the completion of treatment which included 9 courses of polychemotherapy and cyst-prostatectomy



– группы очень высокого риска (схема IVADO), 1/13 (7,5%) проведено лечение для группы с инициальными метастазами с последующей метронуемой терапией (схема CEVAIE). У 3/13 (23%) больных в возрасте младше 3 месяцев инициальные курсы ПХТ проводились по схеме VAC.

Локальный контроль проведен 11/13 (85%) пациентам, включая только хирургическое лечение у 7/13 (54%) больных, только ДЛТ – у 1/13 (7,5%), комбинированное лечение (операция и ДЛТ) – у 1/13 (7,5%). В условиях Университетской клиники Тюбингена (Германия; руководитель педиатрической хирургической службы проф. Й. Фукс) 2/13 (15%) больным проведена внутритканевая брахитерапия, у 1 – в сочетании с хирургическим вмешательством. Локальный контроль не проводился 2/13 (15%) пациентам. В первом случае больному с благоприятной локализацией первичной опухоли (влагалище) с полным ответом на проведенную ПХТ, во втором – пациенту с диссеминированной формой заболевания (множественные подкожные метастазы (blueberry muffin syndrome) в дебюте заболевания) из-за отсутствия субстрата первичной опухоли и полной санации метастатических очагов на фоне ПХТ.

Лучевая терапия проведена 4/13 (30%) больным, включая ДЛТ ($n = 2$) и брахитерапию ($n = 2$). Пациенты, подвергшиеся ДЛТ, включали ребенка с РМС конечности (СОД 50,4 Гр) и РМС параинтестинальной локализацией опухоли (СОД 51,2 Гр). Двоим пациентам с локализацией опухоли в области малого таза проведена внутритканевая брахитерапия в СОД 36 Гр. Следует отметить, что во всех случаях возраст на момент начала лучевой терапии был старше 12 месяцев. Возраст 2 пациентов на момент ДЛТ был равен 21,1 и 13,37 месяца, на момент проведения брахитерапии – 12,4 и 14,5 месяца.

Хирургический этап в объеме second-look-операции проведен у 9/13 (69%) пациентов. Из них

объем операции оценивался следующим образом: R0-резекция ($n = 7$), R1-резекция ($n = 1$), R2-резекция ($n = 1$). У 2/9 пациентов проведены органосохраняющие операции: экзентерация орбиты и цистпростатэктомия (рисунки 1 и 2).

Индукционная терапия завершена у 12/13 (92,5%) больных. Медиана наблюдения за живущими пациентами составила 42,7 (разброс 3,7–90) месяца. Исход наблюдения: 8 (61,5%) пациентов живы, 5 (38,5%) – умерли. Летальный исход отмечен у 1 пациента в результате полиорганной недостаточности, у 3 – в результате рецидива заболевания, у 1 отмечено прогрессирование в процессе метронуемой терапии. Следует отметить, что у пациента с альвеолярной РМС и диссеминированной формой заболевания (клиника blueberry muffin syndrome) отмечался ранний изолированный рецидив с поражением ЦНС. На момент написания настоящей статьи 8/13 (61,5%) больных находятся под динамическим наблюдением: 6/8 без прогрессии/рецидива, 2/8 в ремиссии после терапии локального рецидива и прогрессии.

Трехлетняя ОВ составила 68,4% (95% доверительный интервал 42,6–94,1). Трехлетняя БСВ – 46,2% (95% доверительный интервал 19,1–73,3) (рисунки 3 и 4). Число пациентов в этом исследовании не позволило провести анализ выживаемости в различных группах риска.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

РМС представляет собой наиболее распространенный вид СМТ у детей, на который приходится более 60% случаев заболевания в первое десятилетие жизни. Чаще всего РМС диагностируется у детей младше 6 лет [1]. Дети первого года жизни, страдающие РМС, традиционно рассматриваются как прогностически неблагоприятная группа [6]. Анализ, проведенный несколькими кооперированными исследовательскими группами, показывает худшие показатели БСВ и ОВ у детей первого года жизни по сравнению с пациентами старшего возраста, варьируя от 42,3% и 61,7% до 57% и 76% соответственно (таблица 3) [3–7]. Результаты нашего исследования согласуются с литературными данными.

В литературе приводятся несколько объяснений данным результатам. Во-первых, большинство клинических протоколов по лечению РМС у детей рекомендуют редукцию доз цитостатических препаратов у детей первого года жизни, что выражается в рекомендациях по расчету доз на килограмм массы тела в отличие от площади поверхности тела у детей старше года и/или более 10 кг массы тела, а также возможному дополнительному снижению доз у детей первых 3–6 месяцев жизни. В частности, аналогичные рекомендации используются в протоколах группы

Рисунок 3

Трехлетняя ОБ пациентов, включенных в исследование, составила 68,4% (95% доверительный интервал 42,6–94,1)

Figure 3

The 3-year OS rate for patients included in the study was 68.4% (95% confidence interval 42.6–94.1)

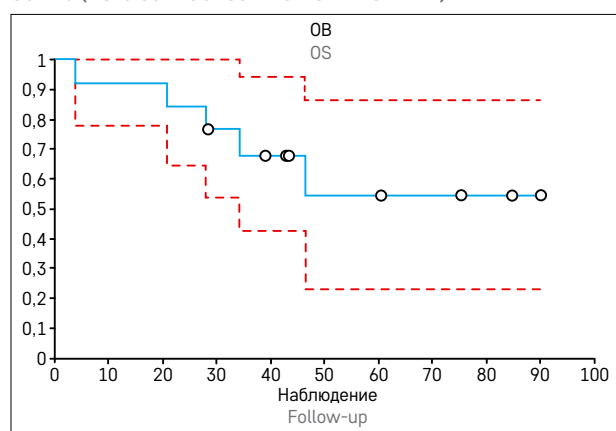
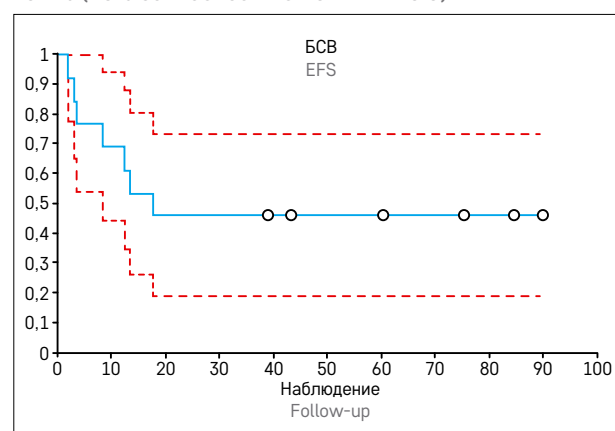


Рисунок 4

Трехлетняя БСВ пациентов, включенных в исследование, составила 46,2% (95% доверительный интервал 19,1–73,3)

Figure 4

The 3-year EFS rate for patients included in the study was 46.2% (95% confidence interval 19.1–73.3)



CWS [2]. Указанные особенности расчета доз цитостатиков могут оказывать неблагоприятное влияние на отдаленные результаты лечения за счет меньшей интенсивности системной терапии и меньших кумулятивных доз препаратов.

Во-вторых, с учетом возраста пациентов и потенциально тяжелых отдаленных последствий лучевой терапии большинство исследовательских групп не рекомендует ее рутинное применение у детей первого года жизни, оставляя ее использование как индивидуальное решение, в частности, для больных, у которых невозможно достичь R0-резекции.

Следует отметить, что вне зависимости от возраста пациента выбор методов локального контроля у детей с РМС представляется чрезвычайно сложным клиническим решением, оказывающим значимое влияние на прогноз заболевания, а также на частоту и степень выраженности отдаленных последствий лечения. Выбор методов локального контроля в условиях НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева осуществляется в рамках мультидисциплинарных конференций с участием врачей – детских онкологов, рентгенологов, лучевых терапевтов и детских хирургов. При этом учитывается не только потенциальное положительное влияние того или иного метода на прогноз заболевания, но и вероятность развития отдаленных осложнений у каждого конкретного пациента. М.С. Stevens, один из руководителей Европейской группы по лечению СМТ у детей (SIOP), в своей статье подчеркнул, что врачи, осуществляющие лечение ребенка с РМС, должны четко осознавать «цену излечения» и во многих ситуациях, особенно у детей раннего возраста, необходимо взвешивать риск рецидива заболевания и инвалидизирующих последствий терапии [11].

Данные группы CWS убедительно показывают, что достижение R0-резекции у пациентов первого года жизни с локализованными формами РМС является определяющим фактором, улучшающим показатели БСВ и ОБ [5]. При этом для достижения R0-резекции могут потребоваться повторные хирургические вмешательства и «чистые» края резекции могут быть получены в ходе отсроченных хирургических вмешательств [5]. В нашей когорте больных ($n = 6$), которые на момент проведения анализа были живы без событий, в 4 случаях выполнена R0-резекция.

Следует отметить, что ряд локализаций рассматривается как прогностически более благоприятные, особенно у детей первого года жизни. Данные особенности необходимо учитывать при планировании терапевтических вмешательств. Так, при РМС с поражением влагалища у девочек первого года жизни в случае достижения полного ответа на ПХТ допустимым является отказ как от калечащих операций, так и от хирургического вмешательства в целом, а также отказ от проведения лучевой терапии [12]. В нашей когорте больных данная тактика была выбрана у единственного ребенка с указанной локализацией опухолевого процесса, при этом период наблюдения за пациентом составил 39 мес.

Необходимо подчеркнуть, что немецкими авторами впервые показано, что проведение лучевой терапии не оказывает значимого влияния на прогноз заболевания в отличие от выводов более ранних публикаций [5]. Так, показатели БСВ и ОБ у пациентов, которым не проводилась лучевая терапия и которым она была выполнена, составили 55% и 50% ($p = 0,44$) соответственно и 69% и 71% ($p = 0,47$) соответственно. Однако проведение лучевой терапии рассматривалось как важный фактор в этом исследовании, снижающий риск развития рецидива забо-

Таблица 3

Результаты лечения пациентов первого года жизни с РМС по данным кооперативных исследовательских групп

Table 3

The results of treatment in patients in the first year of life with rhabdomyosarcoma (RMS), according to the data of cooperative study groups

Показатель Parameter	CWS, 2019 [5]	COG, 2011 [6]	SIOP, 2005 [7]	ICG, 2003 [4]
1	2	3	4	5
Число пациентов, вошедших в исследование, <i>n</i> Number of patients included in the study, <i>n</i>	144	76	64	50
БСВ, % Event-free survival (EFS), %	51	57	57	42,3
ОВ, % Overall survival (OS), %	69	76	72	61,7
Протокол терапии Treatment protocol	CWS-81-86-91 (<i>n</i> = 46) БСВ – 54 ± 14% ОВ – 72 ± 13% CWS-96 (<i>n</i> = 33) БСВ – 38 ± 17% ОВ – 54 ± 17% CWS-2002p (<i>n</i> = 35) БСВ – 60 ± 16% ОВ – 80 ± 14% SoTiSaR (<i>n</i> = 30) БСВ – 55 ± 20% ОВ – 77 ± 18% <i>p</i> (БСВ) – 0,2 <i>p</i> (ОВ) – 0,11 CWS-81-86-91 (<i>n</i> = 46) ЕФС – 54 ± 14% ОС – 72 ± 13% CWS-96 (<i>n</i> = 33) ЕФС – 38 ± 17% ОС – 54 ± 17% CWS-2002p (<i>n</i> = 35) ЕФС – 60 ± 16% ОС – 80 ± 14% SoTiSaR (<i>n</i> = 30) ЕФС – 55 ± 20% ОС – 77 ± 18% <i>p</i> (ЕФС) – 0,2 <i>p</i> (ОС) – 0,11	IRS-IV (<i>n</i> = 41) БСВ – 53% ОВ – нет данных IRS-V: D9803 (<i>n</i> = 15) D9602 (<i>n</i> = 20) IRS-IV (<i>n</i> = 41) ЕФС – 53% ОС – no data IRS-V: D9803 (<i>n</i> = 15) D9602 (<i>n</i> = 20)	MMT-84 MMT-89	RMS-79 (<i>n</i> = 10) БСВ – 54% ОВ – нет данных RMS-88 (<i>n</i> = 16) БСВ – 33% ОВ – нет данных RMS-96 (<i>n</i> = 17) БСВ – 45% ОВ – нет данных <i>p</i> (БСВ) – 0,24 INT (<i>n</i> = 7) RMS-79 (<i>n</i> = 10) ЕФС – 54% ОС – no data RMS-88 (<i>n</i> = 16) ЕФС – 33% ОС – no data RMS-96 (<i>n</i> = 17) ЕФС – 45% ОС – no data <i>p</i> (ЕФС) – 0,24 INT (<i>n</i> = 7)
Возраст пациентов Patient age	≤ 1 месяца (<i>n</i> = 10) БСВ – 20 ± 25% ОВ – 40 ± 30% > 1 ≤ 6 месяцев (<i>n</i> = 47) БСВ – 50 ± 15% ОВ – 71 ± 14% > 6 ≤ 12 месяцев (<i>n</i> = 87) БСВ – 56 ± 11% ОВ – 73 ± 10% <i>p</i> (БСВ) – 0,002 <i>p</i> (ОВ) – 0,028 ≤ 1 month (<i>n</i> = 10) ЕФС – 20 ± 25% ОС – 40 ± 30% > 1 ≤ 6 months (<i>n</i> = 47) ЕФС – 50 ± 15% ОС – 71 ± 14% > 6 ≤ 12 months (<i>n</i> = 87) ЕФС – 56 ± 11% ОС – 73 ± 10% <i>p</i> (ЕФС) – 0,002 <i>p</i> (ОС) – 0,028	≤ 1 месяца (<i>n</i> = 4) < 3 месяцев (<i>n</i> = 13) БСВ – 59% ОВ – нет данных ≥ 3 месяцев (<i>n</i> = 63) БСВ – 56% ОВ – нет данных <i>p</i> (БСВ) – 0,86 ≤ 1 month (<i>n</i> = 4) < 3 months (<i>n</i> = 13) ЕФС – 59% ОС – no data ≥ 3 months (<i>n</i> = 63) ЕФС – 56% ОС – no data <i>p</i> (ЕФС) – 0,86	≤ 1 месяца (<i>n</i> = 5) ≤ 1 month (<i>n</i> = 5)	Врожденная РМС (<i>n</i> = 15) БСВ – 44% ОВ – нет данных Неврожденная РМС (<i>n</i> = 35) БСВ – 41% ОВ – нет данных <i>p</i> (БСВ) – 0,92 Congenital RMS (<i>n</i> = 15) ЕФС – 44% ОС – no data Non-congenital RMS (<i>n</i> = 35) ЕФС – 41% ОС – no data <i>p</i> (ЕФС) – 0,92
Гистологический тип РМС Histological type of RMS	Эмбриональная РМС (<i>n</i> = 95) БСВ – 59 ± 10% ОВ – 75 ± 9% Ботриодная РМС (<i>n</i> = 10) БСВ – 58 ± 32% ОВ – 80 ± 25% Анапластическая РМС (<i>n</i> = 1)	Эмбриональная РМС (<i>n</i> = 43) БСВ – 64% ОВ – нет данных Альвеолярная РМС (<i>n</i> = 16) БСВ – 22% ОВ – 65% Недифференцированная РМС/другие РМС	Эмбриональная РМС (<i>n</i> = 44) БСВ – нет данных ОВ – 82% Альвеолярная РМС (<i>n</i> = 20) БСВ – 21% ОВ – 37% Embryonal RMS	Эмбриональная РМС (<i>n</i> = 38) БСВ – 48% ОВ – нет данных Альвеолярная РМС (<i>n</i> = 11) БСВ – 27% ОВ – нет данных <i>p</i> (БСВ) – 0,21 Embryonal RMS

1	2	3	4	5
	БСВ, ОВ – нет данных Веретеноклеточная/склерозирующая РМС (n = 6) БСВ – 64 ± 41% ОВ – нет данных Альвеолярная РМС (n = 32) БСВ – 27 ± 16% ОВ – 47 ± 20% p (БСВ) – 0,023 p (ОВ) – 0,004 Embryonal RMS (n = 95) EFS – 59 ± 10% OS – 75 ± 9% Botryoid RMS (n = 10) EFS – 58 ± 32% OS – 80 ± 25% Anaplastic RMS (n = 1) EFS, OS – no data Spindle cell/sclerosing RMS (n = 6) EFS – 64 ± 41% OS – no data Alveolar RMS (n = 32) EFS – 27 ± 16% OS – 47 ± 20% p (EFS) – 0,023 p (OS) – 0,004	(n = 17) БСВ – 69% ОВ – нет данных p (БСВ) – 0,04 Embryonal RMS (n = 43) EFS – 64% OS – no data Alveolar RMS (n = 16) EFS – 22% OS – 65% Undifferentiated RMS/other types of RMS (n = 17) EFS – 69% OS – no data p (EFS) – 0,04	(n = 44) EFS – no data OS – 82% Alveolar RMS (n = 20) EFS – 21% OS – 37%	(n = 38) EFS – 48% OS – no data Alveolar RMS (n = 11) EFS – 27% OS – no data p (EFS) – 0,21
Размер первичной опухоли Initial tumour size	≤ 5 см (n = 76) БСВ – 57 ± 11% ОВ – 76 ± 10% > 5 см (n = 65) БСВ – 46 ± 13% ОВ – 63 ± 13% p (БСВ) – 0,16 p (ОВ) – 0,06 Нет данных (n = 3) БСВ – 67 ± 53% ОВ – 50 ± 35% p (БСВ) – 0,013 p (ОВ) – 0,11 ≤ 5 см (n = 76) EFS – 57 ± 11% OS – 76 ± 10% > 5 см (n = 65) EFS – 46 ± 13% OS – 63 ± 13% p (EFS) – 0,16 p (OS) – 0,06 No data (n = 3) EFS – 67 ± 53% OS – 50 ± 35% p (EFS) – 0,013 p (OS) – 0,11	≤ 5 см (n = 45) БСВ – 59% ОВ – нет данных > 5 см (n = 31) БСВ – 54% ОВ – нет данных p (БСВ) – 0,86 ≤ 5 см (n = 45) EFS – 59% OS – no data > 5 см (n = 31) EFS – 54% OS – no data p (EFS) – 0,86		≤ 5 см (n = 28) БСВ – 47% ОВ – нет данных > 5 см (n = 22) БСВ – 36% ОВ – нет данных p (БСВ) – 0,19 ≤ 5 см (n = 28) EFS – 47% OS – no data > 5 см (n = 22) EFS – 36% OS – no data p (EFS) – 0,19
Локализация первичной опухоли Initial tumor site	Конечности (n = 18) БСВ – 65 ± 26% ОВ – 87 ± 17% Голова и шея (n = 35) БСВ – 38 ± 17% ОВ – 52 ± 19% Орбита (n = 8) БСВ – 25 ± 30% ОВ – 75 ± 30% Другие (n = 33) БСВ – 52 ± 18% ОВ – 68 ± 16% Мочеполовая система (n = 50) БСВ – 56 ± 14% ОВ – 74 ± 13% p (БСВ) – 0,12 p (ОВ) – 0,19 Extremities (n = 18) EFS – 65 ± 26% OS – 87 ± 17% Head and neck (n = 35)	Благоприятная (n = 29) БСВ – 52% ОВ – нет данных Неблагоприятная (n = 61) БСВ – 61% ОВ – нет данных p (БСВ) – 0,43 Favourable (n = 29) EFS – 52% OS – no data Unfavourable (n = 61) EFS – 61% OS – no data p (EFS) – 0,43	Конечности (n = 15) Паратестикулярная/влагалище (n = 13) Мочевой пузырь/простата (n = 12) Голова и шея (n = 8) Параменингеальная (n = 2) Орбита (n = 1) Другие (n = 10) Extremities (n = 15) Paratesticular/vagina (n = 13) Urinary bladder/prostate (n = 12) Head and neck (n = 8) Parameningeal (n = 2) Orbit (n = 1)	Голова и шея (n = 44) Мочеполовая система (n = 22) Конечности (n = 10) Другие (n = 24) Head and neck (n = 44) Genitourinary system (n = 22) Extremities (n = 10) Other sites (n = 24)

1	2	3	4	5
	EFS – 38 ± 17% OS – 52 ± 19% Orbit (n = 8) EFS – 25 ± 30% OS – 75 ± 30% Other sites (n = 33) EFS – 52 ± 18% OS – 68 ± 16% Genitourinary system (n = 50) EFS – 56 ± 14% OS – 74 ± 13% p (EFS) – 0,12 p (OS) – 0,19		Other sites (n = 10)	
T-статус по TNM T stage according to the TNM classification	T1 (n = 66) БСВ – 58 ± 12% ОВ – 80 ± 10% T2 (n = 73) БСВ – 46 ± 12% ОВ – 60 ± 12% p (БСВ) – 0,21 p (ОВ) – 0,015 Нет данных (n = 5) БСВ – 40±43% ОВ – 75±43% p (БСВ) – 0,41 p (ОВ) – 0,042 T1 (n = 66) EFS – 58 ± 12% OS – 80 ± 10% T2 (n = 73) EFS – 46 ± 12% OS – 60 ± 12% p (EFS) – 0,21 p (OS) – 0,015 No data (n = 5) EFS – 40±43% OS – 75±43% p (EFS) – 0,41 p (OS) – 0,042	T1 (n = 45) БСВ – 59% ОВ – нет данных T2 (n = 31) БСВ – 53% ОВ – нет данных p (БСВ) – 0,48 T1 (n = 45) EFS – 59% OS – no data T2 (n = 31) EFS – 53% OS – no data p (EFS) – 0,48		T1 (n = 26) БСВ – 48% ОВ – нет данных T2 (n = 24) БСВ – 37% ОВ – нет данных p (БСВ) – 0,24 T1 (n = 26) EFS – 48% OS – no data T2 (n = 24) EFS – 37% OS – no data p (EFS) – 0,24
N-статус по TNM N stage according to the TNM classification	N0 (n = 110) БСВ – 55 ± 10% ОВ – 74 ± 9% N1 (n = 14) БСВ – 36 ± 25% ОВ – 54 ± 27% p (БСВ) – 0,22 p (ОВ) – 0,03 Нет данных (n = 20) БСВ – 45 ± 24% ОВ – 56 ± 23% p (БСВ) – 0,41 p (ОВ) – 0,02 N0 (n = 110) EFS – 55 ± 10% OS – 74 ± 9% N1 (n = 14) EFS – 36 ± 25% OS – 54 ± 27% p (EFS) – 0,22 p (OS) – 0,03 No data (n = 20) EFS – 45 ± 24% OS – 56 ± 23% p (EFS) – 0,41 p (OS) – 0,02	N0 (n = 63) БСВ – 56% ОВ – нет данных N1 (n = 9) БСВ – 65% ОВ – нет данных p (БСВ) – 0,97 N0 (n = 63) EFS – 56% OS – no data N1 (n = 9) EFS – 65% OS – no data p (EFS) – 0,97		N0 (n = 42) БСВ – 49% ОВ – нет данных N1 (n = 8) БСВ – 12% ОВ – нет данных p (БСВ) – 0,016 N0 (n = 42) EFS – 49% OS – no data N1 (n = 8) EFS – 12% OS – no data p (EFS) – 0,016
Стадия по IRS IRS stage	I (n = 17) БСВ – 68 ± 24% ОВ – 73 ± 22% II (n = 24) БСВ – 61 ± 20% ОВ – 81 ± 17% III (n = 103) БСВ – 47 ± 10% ОВ – 66 ± 10% p (БСВ) – 0,26	I (n = 18) БСВ – 89% ОВ – 100% II (n = 15) БСВ – 69% ОВ – 92% III (n = 43) БСВ – 39% ОВ – 60% p (БСВ) – 0,0022		I (n = 5) БСВ – 100% ОВ – нет данных II (n = 8) БСВ – 50% ОВ – нет данных III (n = 34) БСВ – 36% ОВ – нет данных p (БСВ) – 0,28

1	2	3	4	5
	p (OB) – 0,24 I ($n = 17$) EFS – 68 ± 24% OS – 73 ± 22% II ($n = 24$) EFS – 61 ± 20% OS – 81 ± 17% III ($n = 103$) EFS – 47 ± 10% OS – 66 ± 10% p (EFS) – 0,26 p (OS) – 0,24	p (OB) – 0,0012 I ($n = 18$) EFS – 89% OS – 100% II ($n = 15$) EFS – 69% OS – 92% III ($n = 43$) EFS – 39% OS – 60% p (EFS) – 0,0022 p (OS) – 0,0012		I ($n = 5$) EFS – 100% OS – no data II ($n = 8$) EFS – 50% OS – no data III ($n = 34$) EFS – 36% OS – no data p (EFS) – 0,28
Режимы химиотерапии Chemotherapy regimens	VAIA/VACA/CEVAIE ($n = 90$) BCB – 47 ± 10% OB – 64 ± 10% VC/VAC/IVA ($n = 45$) BCB – 61 ± 16% OB – 84 ± 12% Другие ($n = 4$) BCB – 67 ± 53% OB – 75 ± 41% Без ПХТ ($n = 5$) BCB – 60 ± 43% OB – 80 ± 35% p (BCB) – 0,60 p (OB) – 0,26 VAIA/VACA/CEVAIE ($n = 90$) EFS – 47 ± 10% OS – 64 ± 10% VC/VAC/IVA ($n = 45$) EFS – 61 ± 16% OS – 84 ± 12% Other regimens ($n = 4$) EFS – 67 ± 53% OS – 75 ± 41% Without PCHT ($n = 5$) EFS – 60 ± 43% OS – 80 ± 35% p (EFS) – 0,60 p (OS) – 0,26			VAC/CAV ($n = 10$) VACA ($n = 7$) VAIA ($n = 14$) IVA ($n = 10$) CEVAIE ($n = 9$)
Объем лучшей операции Extent of the best surgery	R0-резекция ($n = 61$) BCB – 61 ± 13% OB – 80 ± 11% R1-резекция ($n = 37$) BCB – 54 ± 16% OB – 65 ± 17% R2-резекция ($n = 34$) BCB – 41 ± 17% OB – 66 ± 17% Биопсия ($n = 12$) BCB – 25 ± 25% OB – 42 ± 27% p (BCB) – 0,009 p (OB) – 0,005 R0 resection ($n = 61$) EFS – 61 ± 13% OS – 80 ± 11% R1 resection ($n = 37$) EFS – 54 ± 16% OS – 65 ± 17% R2 resection ($n = 34$) EFS – 41 ± 17% OS – 66 ± 17% Biopsy ($n = 12$) EFS – 25 ± 25% OS – 42 ± 27% p (EFS) – 0,009 p (OS) – 0,005			R0-резекция ($n = 16$) R0 resection ($n = 16$)

1	2	3	4	5
Лучевая терапия Radiation therapy (RT)	Проводилась (n = 35) БСВ – 55 ± 17% ОВ – 69 ± 16% Не проводилась (n = 109) БСВ – 50 ± 10% ОВ – 71 ± 9% p (БСВ) – 0,44 p (ОВ) – 0,47 RT was performed (n = 35) EFS – 55 ± 17% OS – 69 ± 16% RT was not performed (n = 109) EFS – 50 ± 10% OS – 71 ± 9% p (EFS) – 0,44 p (OS) – 0,47			Проводилась (n = 10) RT was performed (n = 10)
Рецидивы Relapses	Локальный (n = 42) БСВ – 47 ± 15% ОВ – 50 ± 16% Метастатический (n = 5) БСВ – нет данных ОВ – 20 ± 15% Комбинированный (n = 4) БСВ – 25 ± 35% ОВ – 25 ± 22% p (БСВ) – 0,006 p (ОВ) – 0,000 Local (n = 42) EFS – 47 ± 15% OS – 50 ± 16% Metastatic (n = 5) EFS – no data OS – 20 ± 15% Combined (n = 4) EFS – 25 ± 35% OS – 25 ± 22% p (EFS) – 0,006 p (OS) – 0,000	n = 32 Локальный (n = 23) Local (n = 23)	n = 6	n = 26 Локальный (n = 18) Локальный, N1 (n = 2) Метастатический (n = 2) Комбинированный (n = 4) (n = 26) Local (n = 18) Local, N1 (n = 2) Metastatic (n = 2) Combined (n = 4)

лечения у пациентов с нерезектабельными опухолями [5].

В анализируемой нами когорте пациентов лучевая терапия была проведена только в 4 случаях, при этом показаниями к ее выполнению являлось наличие нерезектабельной без калечащих последствий остаточной опухоли. Следует отметить, что во всех случаях проведение лучевой терапии рассматривалось как индивидуальное решение, которое обсуждалось с семьей пациента, при этом ее начало было отложено до достижения ребенком возраста старше 1 года. Помимо этого, в 2 случаях предпочтение отдавалось не классическим методикам ДЛТ, а внутритканевой брахитерапии, что потенциально могло уменьшить риски тяжелых отдаленных последствий лечения за счет меньшей абсорбируемой дозы облучения на здоровые органы и ткани [13]. Внутритканевая терапия проводилась в условиях отделения детской хирургии и урологии Университетской клиники г. Тюбингена (Германия; руководитель проф. Й. Фукс) и сочеталась с выполнением радикального хирургического вмешательства у 1 пациента и была единственным вариантом локального контроля у больного с наличием остаточной опухоли после инициальной R2-ре-

зекции и ПХТ – в другом, при этом в последнем случае не отмечено прогрессирования заболевания через 43,1 мес. от момента постановки диагноза.

Относительно небольшая выборка больных в нашем исследовании не позволила провести анализ других факторов, определяющих прогноз у пациентов первого года жизни с РМС. Литературные данные свидетельствуют, что благоприятное влияние на прогноз оказывает возраст на момент постановки диагноза старше 1 месяца, эмбриональный, ботриоидный, веретенноклеточный варианты РМС, T1-статус первичной опухоли, отсутствие поражения региональных лимфатических узлов и отсутствие отдаленных метастазов [4–7].

Стоит отметить особенности клинического течения РМС у детей первого года жизни, а именно возможность клинической презентации в виде характерного синдрома «черничного пирога» (blueberry muffin syndrome) у пациентов, страдающих альвеолярной РМС [10]. Синдром представляет собой метастазы РМС в ПЖК и характерен для неонатального периода. Данный синдром наблюдался у 1 из пациентов, вошедших в исследование (рисунки 5). В процессе химиотерапии все метастатические очаги

Рисунок 5

Кожный синдром «черничного пирога» (blueberry muffin syndrome) у ребенка с альвеолярной РМС, представляющий собой метастатическое поражение подкожно-жировой клетчатки

Figure 5

Blueberry muffin syndrome in a patient with alveolar RMS: a metastatic involvement of the subcutaneous fat



в ПЖК нивелировались. Однако в дальнейшем у ребенка отмечен ранний изолированный рецидив с поражением ЦНС с последующим летальным исходом. Несмотря на нетипичную для РМС локализацию рецидива заболевания, литературные данные указывают на возможную ассоциацию ЦНС-рецидивов и клиническую презентацию альвеолярной РМС в виде синдрома «черничного пирога» [10].

Анализ, проведенный несколькими кооперированными исследовательскими группами, показывает осложнения химиотерапии, которые проявлялись развитием почечной и тубулярной токсичности у пациентов, получавших ифосфамид, в 100% случаев, кардиотоксичностью у детей, получавших препараты группы антрациклиновых антибиотиков, развитием вторичных злокачественных новообразований в 6% случаев [4–7]. В нашем исследовании оценка отдаленной токсичности химиотерапии не проводилась ввиду относительно малого периода наблюдения.

Однако стоит отметить, что у 1 пациента с наличием опухоли мочевого пузыря и нарушением пассажа мочи проводилась химиотерапия с исключением из нее циклофосфамида. У 1 ребенка отмечалось развитие печеночной токсичности, выражавшейся в значительном повышении уровня печеночных трансаминаз после курса ПХТ с актиномицином D.

В настоящее время накапливаются данные, свидетельствующие о молекулярно-генетической гетерогенности РМС в целом и у детей первого года жизни в частности. Так, известно, что для пациентов первого года жизни с веретенноклеточной/склерозирующей РМС наличие перестройки в гене *MYOD1* характеризует неблагоприятный прогноз, в то время как перестройки в гене *NCOA2* рассматриваются как прогностически благоприятные [14, 15]. Необходимы дополнительные исследования, которые могут пролить свет на прогностическое влияние различных молекулярно-генетических маркеров у детей первого года жизни с РМС и их возможное использование для выбора тактики терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в настоящем исследовании данные согласуются с результатами международных кооперативных исследований и позволяют рассматривать возраст пациентов с РМС менее 1 года как неблагоприятный прогностический фактор. Улучшение результатов лечения данной когорты больных возможно только на основе междисциплинарного подхода и детального обсуждения тактики локального контроля, а также углубленного понимания молекулярно-генетических механизмов, лежащих в основе развития РМС у детей первого года жизни.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Stradomskaya T.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0621-191X>

Kachanov D.Yu. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3704-8783>

Grachev N.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4451-3233>

Nechesnyuk A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2537-6157>

Teleshova M.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4042-0125>

Akhaladze D.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1387-209X>

Talypov S.R. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5308-6544>

Shamanskaya T.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3767-4477>

Varfolomeeva S.R. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6131-1783>

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

Литература

1. Ragab A.H., Heyn R., Tefft M., Hays D.N., Newton W.A. Jr., Beltangady M. Infants younger than 1 year of age with rhabdomyosarcoma. *Cancer* 1986; 58(12): 2606–10. DOI: 10.1002/1097-0142(19861215) 58:12<2606::aidcn-cr2820581209>3.0.co;2-t
2. Koscielniak E., Klingebiel T. CWS-guidance for risk adapted treatment of soft tissue sarcoma (STS) and soft tissue tumours in children, adolescents, and young adults. Доступно по: https://www.kinderkrebsinfo.de/health_professionals/clinical_trials/pohkinderkrebsinfoterapiestudien/cws_guidance/index_eng.html. Дата обращения 03.03.2021.
3. Koscielniak E., Harms D., Schmidt D., Ritter J., Keim M., Riehm H., Treuner J. Soft tissue sarcomas in infants younger than 1 year of age: a report of the German soft tissue sarcoma study group (CWS-81). *Med Pediatr Oncol* 1989; 17 (2): 105–10. DOI: 10.1002/mpo.2950170207
4. Ferrari A., Casanova M., Bisogno G., Zanetti I., Cecchetto G., de Bernardi B., et al. Italian Cooperative Group. Rhabdomyosarcoma in infants younger than one year old: a report from the Italian Cooperative Group. *Cancer* 2003; 97 (10): 2597–604. DOI: 10.1002/cncr.11357
5. Sparber-Sauer M., Stegmaier S., Volkuhl C., Seitz G., von Kalle T., Scheer M., et al. CWS Study Group. Rhabdomyosarcoma diagnosed in the first year of life: Localized, metastatic, and relapsed disease. Outcome data from five trials and one registry of the Cooperative Weichteilsarkom Studiengruppe (CWS). *Pediatr Blood Cancer* 2019; 66 (6): e27652. DOI: 10.1002/pbc.27652
6. Malempati S., Rodeberg D.A., Donaldson S.S., Lyden E.R., Anderson J.R., Hawkins D.S., et al. Rhabdomyosarcoma in infants younger than 1 year. *Cancer* 2011; 117 (15): 3493–501. DOI: 10.1002/cncr.25887
7. Orbach D., Rey A., Oberlin O., de Toledo J.S., Terrier-Lacombe M.J., van Unnik E.A., et al. Soft tissue sarcoma or malignant mesenchymal tumors in the first year of life: experience of the International Society of Pediatric Oncology (SIOP) Malignant Mesenchymal Tumor Committee. *J Clin Oncol* 2005; 23: 4363–71. DOI: 10.1200/JCO.2005.12.009
8. Сергеева Т.В., Качанов Д.Ю., Нечеснюк А.В., Грачев Н.С., Телешова М.В., Рощин В.Ю. и др. Результаты лечения рабдомиосаркомы параменингеальной локализации по протоколу CWS2009. *Педиатрия* 2018; 97 (4): 89–99. DOI: 10.24110/0031-403X-2018-97-4-89-99
9. Сергеева Т.В., Качанов Д.Ю., Нечеснюк А.В., Меркулов Н.Н., Талыпов С.Р., Рощин В.Ю. и др. Результаты лечения рабдомиосаркомы мочевого пузыря по протоколу CWS guidance 2009. *Педиатрия* 2019; 98 (4): 49–57. DOI: 10.24110/0031-403X-2019-98-4-49-57
10. Rodriguez-Galindo C., Hill D.A., Onyekwere O., Pin N., Rao B.N., Hoffer F.A., et al. Neonatal alveolar rhabdomyosarcoma with skin and brain metastases. *Cancer* 2001; 92 (6): 1613–20. DOI: 10.1002/1097-0142(20010915) 92:6<1613::AID-CN-CR1487>3.0.CO;2-N
11. Stevens M.C. Treatment for childhood rhabdomyosarcoma: the cost of cure. *Lancet Oncol* 2005; 6 (2): 77–84. DOI: 10.1016/S1470-2045(05)01733-X
12. Minard-Colin V., Walterhouse D., Bisogno G., Martelli H., Anderson J., Rodeberg D.A., et al. International Society of Pediatric Oncology Sarcoma Committee, the Children's Oncology Group, the Italian Cooperative Soft Tissue Sarcoma Group, and the European Pediatric Soft tissue sarcoma Study Group. Localized vaginal/uterine rhabdomyosarcoma-results of a pooled analysis from four international cooperative groups. *Pediatr Blood Cancer* 2018; 65 (9): e27096. DOI: 10.1002/pbc.27096
13. Fuchs J., Paulsen F., Bleif M., Lamprecht U., Weidner N., Zips D., et al. Conservative surgery with combined high dose rate brachytherapy for patients suffering from genitourinary and perianal rhabdomyosarcoma. *Radiother Oncol* 2016; 121 (2): 262–7. DOI: 10.1016/j.radonc.2016.10.010
14. Narasimhan P.A., Michael P.L., Alaggio R., Zhang L., Fujisawa Y., Ladanyi M., et al. MYOD1-mutant spindle cell and sclerosing rhabdomyosarcoma: an aggressive subtype irrespective of age. A reappraisal for molecular classification and risk stratification. *Modern Pathol* 2019; 32:27–36. DOI: 10.1038/s41379-018-0120-9
15. Whittle S.B., Hicks M.J., Roy A., Vasudevan S.A., Reddy K., Venkatramani, R. Congenital spindle cell rhabdomyosarcoma. *Pediatric Blood Cancer* 2019. DOI: 10.1002/pbc.27935

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-91-98

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей с лимфобластной лимфомой

А.В. Козлов, И.В. Казанцев, Т.В. Юхта, П.С. Толкунова, А.Г. Геворгян, И.Ю. Николаев, А.Н. Галибин, О.И. Богданова, Д.А. Звягинцева, М.С. Голенкова, А.Н. Швецов, В.В. Байков, Ю.А. Пунанов, Е.В. Морозова, А.Д. Кулагин, Н.Б. Михайлова, Л.С. Зубаровская

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

У детей лимфобластная лимфома (ЛЛ) в большинстве случаев излечима, однако остается значимая часть пациентов, для которых стандартная терапия будет безуспешной. Так, приблизительно в 10% случаев развивается рецидив или первично-рефрактерное течение заболевания (Р-Р). В этом случае основным методом терапии при достижении ремиссии является аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Выбор в пользу трансплантации преимущественно основывается на опыте терапии взрослых пациентов. Ограниченность данных в педиатрии объясняется малым числом пациентов детского возраста. Прогноз этих больных всегда крайне неблагоприятный. При этом было показано, что выживаемость пациентов после алло-ТГСК выше только в случае достижения ремиссии до трансплантации. Для более веских аргументов в пользу алло-ТГСК желательно проведение рандомизированных клинических исследований. В то же время проведение таких работ в области алло-ТГСК значительно затруднено, что требует поиска других способов доказательной медицины в этой сфере. Вероятно, достижение высоких показателей выживаемости могло бы послужить достаточным аргументом в пользу данного метода. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. В представленной статье обобщен опыт НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова по использованию алло-ТГСК у детей с Р-Р ЛЛ. Данная работа является одной из немногих, посвященных исключительно роли алло-ТГСК в лечении детских Р-Р ЛЛ. В НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой ПСПбГМУ им. И.П. Павлова с 2006 по 2020 г. алло-ТГСК была проведена 13 детям и подросткам с Р-Р ЛЛ, при этом у 2 пациентов выполнено по 2 трансплантации. Повторные трансплантации проводили по причине прогрессирования и первичного неприживления. Медиана предшествующих линий терапии составляла 2,5 (2–4). Ремиссия перед алло-ТГСК была отмечена в 7 случаях. Источником трансплантата были полностью HLA-совместимый родственный донор ($n = 3$), полностью HLA-совместимый неродственный донор ($n = 4$) и гаплоидентичный донор ($n = 8$). В качестве режима кондиционирования применяли следующие схемы: флударабин 150 мг/м² + бусульфид 8–14 мг/кг ($n = 8$), флударабин 150 мг/м² + мелфалан 140 мг/м² ($n = 5$), флударабин 150 мг/м² + треоосульфид 30 мг/м² ($n = 2$). Профилактика реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) чаще всего была основана на посттрансплантационном циклофосфамиде ($n = 11$). Циклофосфамид в монорежиме использовали в случае полностью совместимой родственной трансплантации ($n = 2$), в комбинации с такролимусом и селлсептом для неродственной трансплантации ($n = 1$) и в сочетании с сиролимусом и такролимусом при гаплоидентичной трансплантации ($n = 8$). Трижды при алло-ТГСК от неродственного донора для профилактики РТПХ использовали комбинацию АТГАМ, метотрексат и циклоспорин А. В случае 1 алло-ТГСК от полностью совместимого родственного донора профилактику проводили циклоспорином А в монорежиме. Источником трансплантата были костный мозг ($n = 9$) и периферические стволовые клетки крови ($n = 4$). Медиана CD34⁺/кг составила 3,8 (1,1–10). При медиане наблюдения 651 (106–3034) день 3-летняя бессобытийная выживаемость (БСВ) составила 52% (95% доверительный интервал 25–74), частота рецидива/прогрессирования – 48% (95% доверительный интервал 26–76). За время исследования умерли 5 из 13 пациентов. Причиной летального исхода у всех было основное заболевание. Кумулятивная частота развития острой и хронической РТПХ была 28% (95% доверительный интервал 11–58) и 24% (95% доверительный интервал 5–48) соответственно. Представленная работа является одной из наиболее крупных по числу трансплантированных детей с Р-Р ЛЛ. Полученные результаты превосходят таковые в случае использования только химиотерапии в сравнении с историческим контролем и сопоставимы с немногочисленными опубликованными ранее данными по использованию алло-ТГСК у детей. В данную работу включены пациенты, которым удалось провести алло-ТГСК. Но так как среди них были и дети вне ремиссии ЛЛ, то можно говорить об отсутствии селекции, а значит, о приближении условий, в которых проводилась работа, к так называемой реальной клинической практике. Недостатками работы являются выполнение в одном трансплантационном центре, отсутствие группы сравнения, небольшое число пациентов. Тем не менее с учетом сложности проведения рандомизированных исследований в области алло-ТГСК представленные данные служат важным подтверждением эффективности трансплантации при Р-Р ЛЛ.

Ключевые слова: аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, лимфобластная лимфома, рецидив/прогрессия, дети

© 2021 ФГБУ «НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 18.01.2021
Принята к печати 02.02.2021

Контактная информация:

Козлов Андрей Вадимович, канд. мед. наук, старший научный сотрудник НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой, доцент кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Минздрава России
Адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8
E-mail: kozlovandrew1983@yandex.ru

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPhOI»

Received 18.01.2021

Accepted 02.02.2021

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with lymphoblastic lymphoma

A.V. Kozlov, I.V. Kazantsev, T.V. Yukhta, P.S. Tolkunova, A.G. Gevorgyan, I.Yu. Nikolayev, A.N. Galibin, O.I. Bogdanova, D.A. Zvyagintseva, M.S. Golenkova, A.N. Shvetsov, V.V. Baykov, Yu.A. Punanov, E.V. Morozova, A.D. Kulagin, N.B. Mikhaylova, L.S. Zubarovskaya

R.M. Gorbacheva Research Institute for Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, I.P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg

Correspondence:

Andrey V. Kozlov,

Cand. Med. Sci., Senior Research Associate
at R.M. Gorbacheva Memorial Research
Institute of Children Oncology, Hematology
and Transplantation, Associate Professor
for Hematology, Transfusiology
and Transplantation Chair at I.P. Pavlov
Saint-Petersburg First State Medical
University, Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 6-8 Lva Tolstogo St., Saint
Petersburg, 197022, Russia
E-mail: kozlovandrew1983@yandex.ru

Lymphoblastic lymphoma (LBL) in children is curable in most cases, but there is still a significant proportion of patients in whom standard therapy is ineffective. Thus, patients develop a relapse or a primary refractory disease in about 10% of cases (R/R). In this case, the main treatment method is allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). The choice in favor of transplantation is predominantly based on the experience in adult patients. A small number of pediatric patients accounts for the limited data in pediatrics. The prognosis of these patients is always extremely poor. It has been shown that the survival of patients after allo-HSCT is higher only if remission is achieved prior to the transplantation. In order to provide more evidence in support of allo-HSCT, randomized clinical trials are needed. However, such studies in the field of allo-HSCT are quite difficult to conduct, and this necessitates the search for alternative methods of evidence-based medicine in this area. Probably, the achievement of high survival rates could be considered a sufficient argument in favor of this method. This study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the I.P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University of the Ministry of Healthcare of Russia. In this work, we summarize the experience in allo-HSCT in children with R/R LBL obtained at the R.M. Gorbacheva Research Institute for Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, I.P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University. This work is one of the few ones devoted exclusively to the role of allo-HSCT in the treatment of pediatric R/R LBL. From 2006 to 2020, at the R.M. Gorbacheva Research Institute for Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, I.P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, allo-HSCT was performed in 13 children and adolescents with R/R LBL (2 patients underwent 2 transplantations). Repeated transplantations were performed due to progression and primary graft failure. The median number of prior lines of therapy was 2.5 (2–4). Remission prior to allo-HSCT was observed in 7 cases. The graft sources were a fully HLA-matched related donor ($n = 3$), a fully HLA-matched unrelated donor ($n = 4$), and a haploidentical donor ($n = 8$). The following schedules were used as a conditioning regimen: fludarabine 150 mg/m² + busulfan 8–14 mg/kg ($n = 8$), fludarabine 150 mg/m² + melphalan 140 mg/m² ($n = 5$), fludarabine 150 mg/m² + treosulfan 30 mg/m² ($n = 2$). In most cases, the prevention of "graft versus host" disease (GVHD) was based on post-transplant cyclophosphamide ($n = 11$). Cyclophosphamide alone was used in fully matched related transplantation ($n = 2$), in combination with tacrolimus and cellcept – in unrelated transplantation ($n = 1$), and in combination with sirolimus and tacrolimus – in haploidentical transplantation ($n = 8$). A combination of ATGAM, methotrexate and cyclosporin A was used three times in allo-HSCT from an unrelated donor for the prevention of GVHD. In one allo-HSCT from a fully matched related donor, cyclosporin A alone was used for the prevention of GVHD. The graft sources were bone marrow ($n = 9$) and peripheral blood stem cells ($n = 4$). The median CD34⁺ cells/kg was 3.8 (1.1–10.0). At the median follow-up of 651 (106–3034) days, the 3-year event-free survival rate was 52% (95% CI: 25–74), the incidence of relapse/progression was 48% (95% CI: 26–76). Five out of thirteen patients died during the study period. The cause of death was the underlying disease in all cases. The cumulative incidence of acute and chronic GVHD was 28% (95% CI: 11–58%) and 24% (95% CI: 5–48), respectively. This work is one of the largest in terms of the number of transplanted children with R/R LBL. Our results are superior to those obtained in case of using only chemotherapy in comparison with the historical control and are comparable with the few previously published data on allo-HSCT in children. In this study, we included patients who underwent allo-HSCT. Among them, there were also children out of remission of LBL which implies that there was no selection of patients, and thus our study settings were close to the so-called real clinical settings. The drawbacks of this work include the following: the study was carried out at a single transplant center, there was no comparison group, the number of patients was low. Nevertheless, considering the complexity of conducting randomized trials in the field of allo-HSCT, the presented data serve as an important confirmation of the effectiveness of transplantation in R/R LBL.

Key words: allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, lymphoblastic lymphoma, relapse/progression, children

Kozlov A.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 91–98.

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-91-98

Лимфобластная лимфома (ЛЛ) является второй по частоте среди неходжкинских лимфом (НХЛ) у детей [1]. Большая часть НХЛ в педиатрии в отличие от взрослых относится к агрессивным высокозлокачественным опухолям, не является исключением и ЛЛ. Чаще всего встречается Т-клеточный вариант ЛЛ – до 90% [2]. Для заболевания характерны поражение костного мозга (КМ), центральной нервной системы (ЦНС), частый переход ЛЛ в острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), при этом высокая эффективность протоколов первой линии, основанных на принципах лечения ОЛЛ. Все это подтверждает принципиальную биологическую схожесть ЛЛ и ОЛЛ. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) расценивает представленные заболевания как одну нозологическую единицу [3]. У детей данный вариант лимфомы в большинстве случаев излечим, однако остается значимая часть пациентов, для которых стандартное лечение будет безуспешным. Так, приблизительно у 10% развивается рецидив или первично-рефрактерное течение

заболевания (Р-Р). В этом случае основным методом терапии при достижении ремиссии является аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), хотя аутологичная трансплантация (ауто-ТГСК) в ряде случаев также рассматривается как возможная опция [4]. Выбор в пользу алло-ТГСК преимущественно основывается на опыте терапии взрослых пациентов. На большой выборке главным образом пациентов старше 18 лет было показано, что частота рецидива выше после ауто-ТГСК, чем после алло-ТГСК, что связано с наличием иммуноадаптивной реакции «трансплантат против опухоли» (РТПО) при ЛЛ [5]. Аналогичные результаты, по данным Центра международных исследований трансплантации крови и КМ, получены и в педиатрической практике [6]. Количество публикаций, посвященных данной проблеме, в целом невелико, основные из них приведены в таблице 1.

Ограниченность данных объясняется малым числом пациентов детского возраста с ЛЛ, рефрактерным течением заболевания. Так, группе BFM за

13 лет удалось набрать всего 34 ребенка с Р-Р ЛЛ [8]. Прогноз этих пациентов всегда крайне неблагоприятный [9]. При этом было показано, что выживаемость пациентов после алло-ТГСК была выше только в случае достижения ремиссии до трансплантации. Для более веских аргументов в пользу алло-ТГСК желательно проведение рандомизированных клинических исследований. В то же время выполнение таких работ в области алло-ТГСК затруднено и требует поиска других способов доказательной медицины в этой сфере. Представляется, что достижение высоких показателей выживаемости могло бы послужить достаточным аргументом в пользу данного метода. Все это объясняет необходимость поиска оптимальной терапии в группе детей с Р-Р ЛЛ. По нашему мнению, дальнейшее совершенствование лечения Р-Р ЛЛ будет связано как с оптимизацией использования алло-ТГСК, так и с углублением молекулярно-биологического понимания опухоли, внедрением эффективных методов таргетной и иммунотерапии.

В представленной статье обобщен опыт НИИ ДОГиТ им Р.М. Горбачевой ПСПбГМУ им. И.П. Павлова по использованию алло-ТГСК у детей с Р-Р ЛЛ. Данная работа является одной из немногих, посвященных исключительно роли алло-ТГСК в лечении Р-Р ЛЛ у детей. Большая часть ранее опубликованных исследований рассматривала разные подходы к терапии Р-Р ЛЛ, где алло-ТГСК была только одним из возможных методов. В настоящее время представлено всего несколько статей, в которых анализируется эффективность алло-ТГСК у пациентов детского возраста с Р-Р ЛЛ. Чаще всего работы

обобщают прогноз детей с Р-Р ЛЛ вне зависимости от терапии, так что не представляется возможным оценить эффективность именно алло-ТГСК [8, 9]. Если допустить возможным простой перенос опыта применения алло-ТГСК при ОЛЛ на ЛЛ, то тогда ожидаемая долгосрочная выживаемость после алло-ТГСК будет варьировать от 40 до 70% в зависимости от различных прогностических факторов и используемой методики выполнения трансплантации [11, 12]. Но существуют объективные сомнения в возможности такого механического подхода, в то же время ограниченность данных не позволяет составить определенное мнение о роли алло-ТГСК в педиатрической практике. Требуется накопление совокупного опыта, что позволит эффективнее использовать данный метод у детей с ЛЛ, в том числе при Р-Р ЛЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. В НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой ПСПбГМУ им. И.П. Павлова с 2006 по 2020 г. алло-ТГСК была проведена 13 детям и подросткам с Р-Р ЛЛ, при этом 2 больным проведено по 2 трансплантации. Характеристика пациентов приведена в таблице 2. Повторные трансплантации выполняли по причине прогрессирования (пациент №5) или первичного неприживления (пациент №11). Таким образом, всего выполнено 15 алло-ТГСК. Медиана возраста составила 8 (1–18) лет. В дебюте у всех отмечали продвинутое стадии заболевания в соответствии

Таблица 1
Эффективность терапии Р-Р ЛЛ (литературные данные)

Table 1
The effectiveness of treatment for R/R LBL (literature data)

Автор Author	Число пациентов Number of patients	Вариант НХЛ Subtype of NHL	Дети/взрослые Children/adults	Терапия Treatment	TRM, %	ОВ, % OS, %	БСВ, % EFS, %
E. Bureo, 1995 [7]	46	ЛЛ (21) + другие НХЛ LBL (21) + other NHLs	Дети Children	Ауто и алло Auto- and allo	13	N/A	58
J.E. Levine, 2002 [5]	204	ЛЛ LBL	Дети и взрослые Children and adults	Ауто и алло Auto and allo	Ауто – 3, алло – 18 Auto – 3, allo – 18	Ауто – 44, алло – 39 Auto – 44, allo – 39	Ауто – 39, алло – 36 Auto – 39, allo – 36
B. Burkhardt, 2009 [8]	34	ЛЛ LBL	Дети Children	ХТ, ауто, алло CT, auto, allo	N/A	Все – 14, алло – 44 All – 14, allo – 44	N/A
T.G. Gross, 2010 [6]	53	ЛЛ LBL	Дети Children	Ауто и алло Auto and allo	Ауто – 24, алло – 25 Auto – 24, allo – 25	N/A	Ауто – 4, алло – 40 Auto – 4, allo – 40
K. Michaux, 2016 [9]	23	ЛЛ LBL	Дети Children	ХТ, ауто и алло CT, auto and allo	N/A	8,7	8,7
S. Naik, 2019 [10]	36	ЛЛ (9) + другие НХЛ LBL (9) + other NHLs	Дети Children	Алло Allo	6	67	68

Примечание. TRM – трансплантационная летальность; ОВ – общая выживаемость; ауто – аутологичная ТГСК, алло – аллогенная ТГСК, ХТ – химиотерапия, N/A – не применимо.

Note. LBL – lymphoblastic lymphoma; NHL – non-Hodgkin lymphoma; HSCT – hematopoietic stem-cell transplantation; TRM – transplant-related mortality; OS – overall survival; EFS – event-free survival; auto – autologous HSCT; allo – allogeneic HSCT; CT – chemotherapy; N/A – not applicable

с модифицированной классификацией St. Jude: III ($n = 6$) и IV ($n = 7$) стадии [13]. Терапию первой линии проводили по протоколам группы BFM для НХЛ. Т-клеточный вариант ЛЛ был диагностирован у 11 пациентов и В-клеточный вариант – у 2 больных. Медиана времени от постановки диагноза до развития рецидива или установления рефрактерного течения составила 300 (30–1103) дней. Медиана времени от диагноза до алло-ТГСК была 1,5 (0,7–3,7) года.

Медиана предшествующих линий терапии составляла 2,5 (2–4). Течение ЛЛ было рецидивирующим ($n = 7$) или рефрактерным ($n = 6$). Полную ремиссию перед алло-ТГСК отмечали в 5 случаях, частичную – в 2, стабилизацию – в 2 и прогрессию – в 6.

Источником трансплантата были полностью HLA-совместимый родственный донор ($n = 3$), полностью HLA-совместимый неродственный донор ($n = 4$) и гаплоидентичный донор ($n = 8$). Чаще всего исполь-

Таблица 2
Характеристика пациентов

Table 2
Characteristics of patients

Пациент Patient	Возраст, годы Age, years	ЛЛ LBL	Рецидив Relapse	Терапия рецидива Treatment of relapse	Статус на ТГСК Status prior to HSCT	Режим кондициони- рования Conditioning regimen	ТГСК HSCT	Терапия после ТГСК Treatment after HSCT	Наблюдение, дни Follow-up, days	Статус Status
1	9	Т	КМ, л/у BM, LN	ALL-REZ BFM 2002, неларабин ALL-REZ BFM 2002, nelarabine	ПР CR	FluMel	Гапло Haplo	FLAG	137	Умер, прогрессия Died, progression
2	14	Т	Л/у LN	dexa-BEAM, FLAG	ПР CR	FluMel	Нерод. Unrel.	Паллиат. Palliat.	2558	Умер, прогрессия Died, progression
3	14	Т	Л/у LN	ALL-REZ BFM 2002	С S	FluBu14	Гапло Haplo	Нет No	456	Жив, ремиссия Alive, remission
4	6	Т	ЦНС CNS	ALL-REZ BFM 2002	П P	FluBu14	Нерод. Unrel.	ИТ TIT	2656	Жив, ремиссия Alive, remission
5	2	В	ЦНС, яичко CNS, testis	FLAG, гапло, ALL-REZ BFM 2002, орхиэктомия FLAG, haplo, ALL-REZ BFM 2002, orchietomy	П P	1) FluBu14 2) FluTreo	Гапло №2 Haplo №2	ИТ TIT	679	Жив, ремиссия Alive, remission
6	14	Т	Л/у LN	FLAG	ЧР PR	FluBu8	Род. Rel.	Нет No	651	Жив, ремиссия Alive, remission
7	4	Т	Яичко Testis	HR3, FLAG	П P	FluBu14	Гапло Haplo	Паллиат. Palliat.	106	Жив, прогрессия Alive, progression
8	18	Т	Л/у LN	ALL-REZ BFM 2002, FLAG	П P	FluMel	Нерод. Unrel.	Паллиат. Palliat.	453	Умер, прогрессия Died, progression
9	6	Т	Л/у LN	ALL-REZ- BFM95, неларабин, FLAG ALL-REZ-BFM95, nelarabine, FLAG	С S	FluBu14	Гапло Haplo	Ниволумаб Nivolumab	141	Умер, прогрессия Died, progression
10	18	Т	Л/у LN	FLAG	П P	FluBu12	Нерод. Unrel.	Паллиат. Palliat.	680	Умер, прогрессия Died, progression
11	8	Т	ЦНС CNS	FLAG, ауто-ТГСК, ниволумаб, цитозар + ИТ FLAG, auto-HSCT, nivolumab, Cytosar + TIT	ПР CR	1) FluBu8 2) FluTreo	Гапло №2 Haplo №2	ИТ TIT	770	Жив, ремиссия Alive, remission
12	7	В	Л/у LN	ALL rez-MB 2014	ПР CR	FluBu8	Род. Rel.	Нет No	153	Жив, ремиссия Alive, remission
13	18	Т	Л/у LN	Неларабин Nelarabine	ЧР PR	FluMel	Род. Rel.	Нет No	3034	Жив, ремиссия Alive, remission

Примечание. Т – Т-клеточная ЛЛ; В – В-клеточная ЛЛ; ПР – полная ремиссия; ЧР – частичная ремиссия; С – стабилизация; П – прогрессия; л/у – лимфатические узлы; FluBu – флударабин + бусульфан (в конце указана суммарная доза бусульфана, мг/кг); FluMelph – флударабин + мелфалан; FluTreo – флударабин + тресульфан; род. – родственный полностью совместимый донор; нерод. – неродственный полностью совместимый донор; гапло – гаплоидентичный донор; паллиат. – паллиативная терапия; ИТ – интратекальные триплеты; ALL-REZ BFM и ALL rez-MB 2014 – протоколы для лечения рецидива ОЛЛ; HR3 – блок высокой группы риска протокола BFM; FLAG – цитозар, флударабин, колониестимулирующий фактор; dexa-BEAM – дексаметазон, кармусти, этопозид, цитозар, мелфалан.
Note. T – T-LBL; B – B-LBL; CR – complete remission; PR – partial remission; S – stabilization; P – progression; LN – lymph nodes; CNS – central nervous system; BM – bone marrow; FluBu – fludarabine + busulfan (total dose of busulfan (mg/kg) is indicated at the end); FluMelph – fludarabine + melphalan; FluTreo – fludarabine + treosulfan; rel. – related fully matched donor; unrel. – unrelated fully matched donor; haplo – haploidentical donor; palliat. – palliative therapy; TIT – triple intrathecal therapy; ALL-REZ BFM and ALL rez-MB 2014 – treatment protocols for relapsed ALL; HR3 – a high risk therapy course of BFM protocol; FLAG – cytosar, fludarabine, granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF); dexa-BEAM – dexamethasone, carmustine, etoposide, Cytosar, melphalan.

зовали режим кондиционирования со сниженной интенсивностью доз ($n = 10$), вторым по частоте был миелоаблативный режим кондиционирования ($n = 5$). В качестве режимов кондиционирования применяли следующие схемы: флударабин 150 мг/м^2 + бусульфан $8\text{--}14 \text{ мг/кг}$ ($n = 8$), флударабин 150 мг/м^2 + мелфалан 140 мг/м^2 ($n = 5$), флударабин 150 мг/м^2 + треоульфан 30 мг/м^2 ($n = 2$). Последнюю схему применяли в случае повторной алло-ТГСК.

Профилактика реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) чаще всего была основана на посттрансплантационном циклофосфамиде ($n = 11$). Циклофосфамид в монорежиме использовали в случае полностью совместимой родственной трансплантации ($n = 2$), в комбинации с такролимусом и селлсептом – для неродственной ($n = 1$) и в сочетании с сиролимусом и такролимусом – при гаплоидентичной ($n = 8$). Трижды при алло-ТГСК от неродственного донора для профилактики острой РТПХ использовали комбинацию АТГАМ, метотрексат и циклоспорин А. В случае 1 алло-ТГСК от полностью совместимого родственного донора профилактику проводили циклоспорином А. Источником трансплантата были КМ ($n = 9$) и периферические стволовые клетки крови ($n = 4$). Медиана $\text{CD34}^+/\text{кг}$ составила $3,8 (1,1\text{--}10)$.

В посттрансплантационном периоде 3 пациентам (№4, 5 и 11) с высоким риском развития рецидива и поражением ЦНС проводили профилактические интратекальные введения триплета (преднизолон, цитозар и метотрексат) в возрастной дозировке. РТПХ оценивали на основании общепризнанных стандартных критериев [14, 15]. Эффективность проводимой терапии ЛЛ оценивали по критериям Лугано [16]. При поражении КМ и ЦНС использовали критерии ответа, применяемые для ОЛЛ. Приживление трансплантата фиксировали при уровне нейтрофилов выше $0,5 \text{ тыс в } 1 \text{ мкл}$ в течение 3 дней.

Статистический анализ осуществляли с помощью программы EZR (Easy R). Для расчета БСВ применяли метод Каплана–Майера. Событием считали смерть пациента, развитие рецидива или прогрессирование ЛЛ. Вычисление кумулятивной частоты события проводили с учетом влияния конкурирующих рисков. При расчете хронической РТПХ конкурирующими рисками были ранние рецидивы, прогрессия ЛЛ и неприживление. Анализ факторов риска не проводили из-за малого числа пациентов, включенных в исследование.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При медиане наблюдения 651 (106–3034) день 3-летняя БСВ составила 52% (95% доверительный интервал (ДИ) 25–74) и частота рецидива/прогрес-

сирования – 48% (95% ДИ 26–76) (рисунки 1 и 2). За время исследования умерли 5 из 13 пациентов. Причиной летального исхода у всех было основное заболевание. Ни один человек не умер из-за осложнений, обусловленных трансплантацией. Кумулятивная частота развития острой и хронической РТПХ была 28% (95% ДИ 11–58) и 24% (95% ДИ 5–48) соответственно (рисунки 3 и 4). У 4 пациентов отмечали только острую РТПХ с поражением кожи, при этом клинически значимая IV стадия была диагностирована у 1 пациента (№11), у остальных установлена I стадия (пациенты №1, 5, 11). Хроническая РТПХ была зарегистрирована у 3 детей: легкие формы с поражением глаз (пациент №4) и печени (пациент №11) и тяжелая РТПХ с поражением легких (пациент №13). Стероид-резистентные формы РТПХ развились в 2 случаях (пациенты №11 и 13). У этих больных удалось справиться с РТПХ после добавления к терапии руксолитиниба. Приживление трансплантата и полный донорский химеризм были зарегистрированы после 14 из 15 алло-ТГСК. У пациента с неприживлением была проведена повторная гапло-ТГСК от другого донора, что привело к стойкому приживлению. В случае развития рецидива или прогрессирования ЛЛ после алло-ТГСК достижение длительной ремиссии наблюдали только у 1 пациента (№5) из 7. Ему была проведена повторная гапло-ТГСК от того же донора. Также у 3 пациентов из этой крайне неблагоприятной группы (№2, 8 и 10) успешно проводили разные схемы паллиативной терапии, позволившие значительно увеличить продолжительность жизни даже в отсутствие стойкой ремиссии (2558, 453 и 680 дней после алло-ТГСК соответственно). Пациенты с высоким риском развития рецидива с поражением ЦНС и посттрансплантационной интратекальной терапией не имели значимых осложнений, обусловленных данным методом, и длительно сохраняют ремиссию.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Лечение детей с Р-Р ЛЛ остается нерешенной проблемой, несмотря на выдающиеся достижения в детской онкологии. Более того, эффективные, но очень интенсивные протоколы первой линии приводят к тому, что рецидивы хуже поддаются терапии. Такая зависимость наблюдается и при других лимфопролиферативных заболеваниях [17, 18]. Малое число пациентов и отсутствие эффективных методов лечения Р-Р ЛЛ требуют объединения данных в рамках многоцентровых исследований, а также поиска принципиально новых подходов к лечению. Обычно в качестве второй линии терапии применяются ОЛЛ-подобные протоколы, чаще всего основанные на опыте группы BFM (блоки для высокого риска или противорецидивные схемы). Хорошо

Рисунок 1
БСВ пациентов с Р-Р ЛЛ после алло-ТГСК

Figure 1
EFS of patients with R/R LBL after allo-HSCT

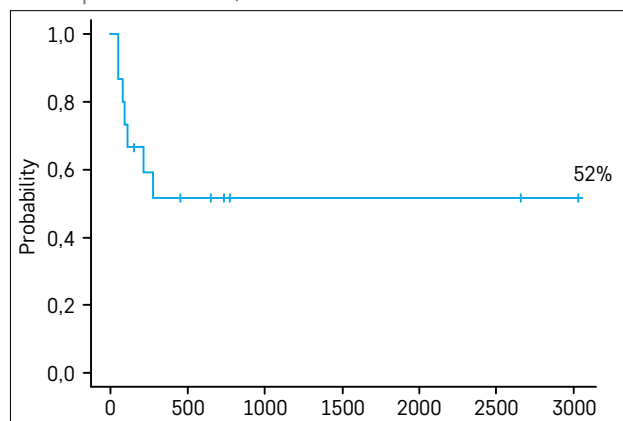
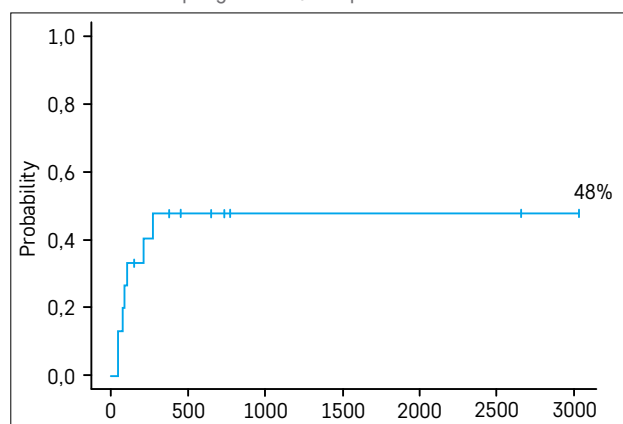


Рисунок 2
Частота прогрессирования/рецидива после алло-ТГСК

Figure 2
The incidence of progression/relapse after allo-HSCT



известный метод алло-ТГСК, обладающий общепризнанной эффективностью у взрослых, мало изучен у детей с Р-Р ЛЛ в силу редкости патологии и сложности достижения ремиссии перед трансплантацией. По имеющимся немногочисленным литературным данным, трансплантация способна значительно улучшить прогноз в этой группе. В отличие от ОЛЛ генетические особенности ЛЛ исследованы недостаточно и, возможно, углубление знаний в этой области сможет принципиально изменить ситуацию [19]. Ведется активный поиск факторов риска, в первую очередь молекулярно-биологических, способных более индивидуально подходить к терапии каждого конкретного пациента. Вероятно, в будущем появится не только возможность полного излечения ЛЛ без использования цитостатиков (только с помощью иммунотерапии или таргетной терапии), но и возможность выделить неизлечимых пациентов на основании молекулярно-биологических характеристик опухоли, что позволит также отказаться от применения токсичной высокодозной химиотерапии.

Рисунок 3
Частота развития острой РТПХ после алло-ТГСК

Figure 3
The incidence of acute "graft versus host" disease (GVHD) after allo-HSCT

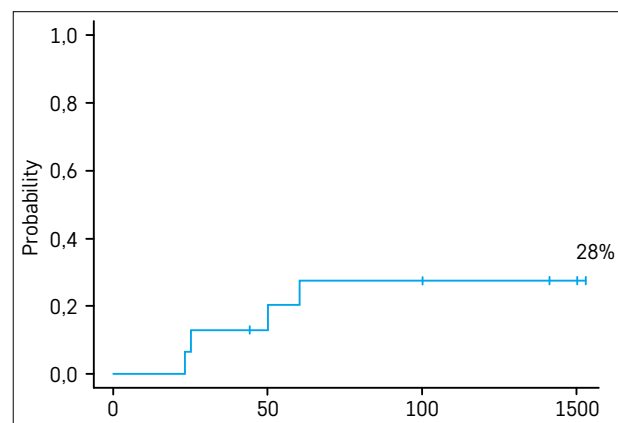
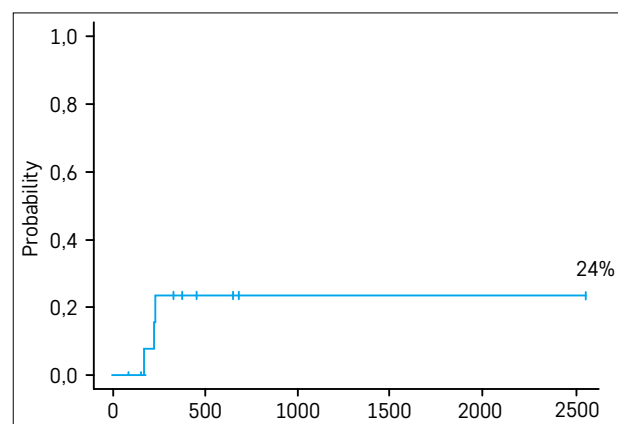


Рисунок 4
Частота хронической РТПХ после алло-ТГСК

Figure 4
The incidence of chronic GVHD after allo-HSCT



Представленная работа является одной из наиболее крупных по числу трансплантированных от аллогенного донора детей с Р-Р ЛЛ. Полученные результаты (БСВ 52%) превосходят таковые в случае использования только химиотерапии в сравнении с историческим контролем и сопоставимы с немногочисленными опубликованными ранее данными по использованию алло-ТГСК у детей [6, 8]. Общепризнанной является необходимость достижения ремиссии перед трансплантацией. В целом проведение трансплантации в стабилизации или прогрессии ЛЛ не показано. Общепризнанной и рекомендованной тактикой в таких ситуациях должно быть проведение паллиативной терапии.

Тем не менее иногда опция алло-ТГСК может рассматриваться, несмотря на низкую эффективность и высокий риск посттрансплантационных осложнений в случае активного заболевания. С учетом этого в представляемую работу были включены пациенты и вне ремиссии перед алло-ТГСК. Так, из 7 пациентов с прогрессией или стабилизацией на момент алло-ТГСК у 3 сохраняется ремиссия в

течение значительного временного интервала (пациенты №3–5). Полученные одноцентровые данные на ограниченном количестве наблюдений подтверждают ранее известную принципиальную возможность излечения отдельных пациентов даже на фоне активного заболевания после проведения алло-ТГСК [20]. Однако эти данные не могут быть основанием для широкого проведения алло-ТГСК вне ремиссии ЛЛ. Алло-ТГСК в такой ситуации возможна только в исключительных случаях после проведения клинико-семейного консилиума, отсутствия завышенных ожиданий у родственников и готовности семьи столкнуться с ухудшением состояния ребенка в подавляющем большинстве случаев после проведения алло-ТГСК. В представленной работе собраны пациенты, которым удалось провести алло-ТГСК. Но так как среди них были и дети вне ремиссии ЛЛ, то можно говорить об отсутствии селекции, а значит, о приближении условий, в которых проводилась работа, к так называемой реальной клинической практике.

У 3 пациентов (№4, 5 и 11) со специфическим поражением ЦНС осуществляли профилактическую посттрансплантационную интратекальную терапию. Это было обусловлено тем, что РТПО слабо реализуется в органах, обладающих физиологическим барьером. По нашему мнению, в этих случаях требуются дополнительные меры локального контроля. Триплеты хорошо переносились пациентами после алло-ТГСК, и ни у кого не было зарегистрировано рецидива в дальнейшем.

Несмотря на то, что ЛЛ является агрессивной опухолью, у 3 пациентов с рецидивом или прогрессией после алло-ТГСК удалось добиться относительно длительной выживаемости на фоне различных схем паллиативной терапии. Это означает, что в случае Р-Р ЛЛ и невозможности достижения ремиссии оптимальным будет являться проведение малотоксичной паллиативной терапии, которая у части пациентов позволит значимо увеличить продолжительность жизни при сохранении ее качества.

Повторные алло-ТГСК, также как и при остром лейкозе, могут быть эффективны у некоторых пациентов с Р-Р ЛЛ [21]. Так, в представленной работе у 2 пациентов проведение повторной алло-ТГСК привело в одном случае к достижению длительной ремиссии, в другом – к появлению донорского гемопоэза после первичного неприживления.

Частота наблюдаемой РТПХ в целом соответствует данным у взрослых при применении посттрансплантационного циклофосфида [22]. Клинически значимые тяжелые формы РТПХ были отмечены только у 2 из 13 пациентов, при этом один из них ранее получал ингибиторы иммунных контрольных точек, что повышает риск развития данного осложнения.

Трансплантационной летальности зарегистрировано не было, что, вероятно, объясняется малым числом пациентов, включенных в исследование.

Недостатками работы являются выполнение в одном трансплантационном центре, отсутствие группы сравнения, небольшое число пациентов. Тем не менее с учетом сложности проведения рандомизированных исследований в области алло-ТГСК представленные данные служат важным подтверждением эффективности трансплантации при Р-Р ЛЛ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Алло-ТГСК является относительно эффективным методом терапии детей с Р-Р ЛЛ, позволяющим добиться стабилизации состояния вплоть до ремиссии приблизительно у половины пациентов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Kozlov A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4072-601X>

Kazantsev I.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3818-6213>

Yukhta T.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5979-9182>

Tolkunova P.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2296-0358>

Gevorgyan A.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2905-8209>

Nikolayev I.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8589-4618>

Galibin A.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7606-3647>

Bogdanova O.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1286-6069>

Zvyagintseva D.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7435-4616>

Golenkova M.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8227-8257>

Shvetsov A.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7173-7673>

Baykov V.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9191-5091>

Punarov Yu.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0445-8452>

Morozova E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9605-485X>

Kulagin A.D. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9589-4136>

Mikhaylova N.B. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2913-047X>

Zubarovskaya L.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2594-7703>

Литература

- Волчков Е.В., Ольшанская Ю.В., Мякова Н.В. Прогностические маркеры лимфобластной лимфомы. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2020; 19 (4): 198–204.
- Bassan R., Maino E., Cortelazzo S. Lymphoblastic lymphoma: an updated review on biology, diagnosis, and treatment. Eur J Haematol 2016; 96 (5): 447–60.
- Arber D., Orazi A., Hasserjian R., Thiele J., Borowitz M.J., Le Beau M.M., et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood 2016; 127 (20): 2391–405.
- Won S.C., Han J.W., Kwon S.Y., Shin H.-Y., Ahn H.-S., Hwang T.G., et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation in children with non-Hodgkin's lymphoma: A report from the Korean society of pediatric hematology-oncology. Ann Hematol 2006; 85: 787–94.
- Levine J.E., Harris R.E., Loberiza F.R. Jr, Armitage J.O., Vose J.M., Van Besien K., et al. A comparison of allogeneic and autologous bone marrow transplantation for lymphoblastic lymphoma. Blood 2003; 101 (7): 2476–82.
- 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.
- Bureo E., Ortega J.J., Muñoz A., Cubells J., Madero L., Verdaguer A., et al. Spanish Working Party for Bone Marrow Transplantation in Children. Bone marrow transplantation in 46 pediatric patients with non-Hodgkin's lymphoma. Bone Marrow Transplant 1995; 15 (3): 353–9.
- 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.
- 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.
- Naik S., Martinez C.A., Omer B., Sasa G., Yassine K., Allen C.E., et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplant for relapsed and refractory non-Hodgkin lymphoma in pediatric patients. Blood Adv 2019; 3 (18): 2689–95.
- Paina O.V., Kozhokar P.V., Borovkova A.S., Frolova A.S., Ekushov K.A., Bykova T.A., et al. Ten-year experience of allogeneic haploidentical hematopoietic stem cell transplantation with non-manipulated grafts in children and adolescents with high-risk acute leukemia. Cell Ther Transplant 2018; 7 (2): 20–7.
- Merli P., Algeri M., Del Bufalo F., Locatelli F. Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. Curr Hematol Malig Rep 2019; 14 (2): 94–105.
- Rosolen A., Perkins S.L., Pinkerton C.R., Guillerman G.R., Sandlund J.T., Reiter A., et al. Revised International Pediatric Non-Hodgkin Lymphoma Staging System. J Clin Oncol 2015; 33 (18): 2112–8.
- Jagasia M.H., Greinix H.T., Arora M., Williams K.M., Wolff D., Cowen E.W., et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. Biol Blood Marrow Transplant 2015; 21 (3): 389–401.
- Przepiorka D., Weisdorf D., Martin P., Klingemann H.G., Beatty P., Hows J., et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. Bone Marrow Transplant 1995; 15 (6): 825–8.
- Cheson B.D., Fisher R.L., Barrington S.F., Cavalli F., Schwartz L.H., Zucca E., et al. Recommendations for Initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. J Clin Oncol 2014; 32 (27): 3059–68.
- Woessmann W. How to treat children and adolescents with relapsed non-Hodgkin lymphoma? Hematol Oncol 2013; 31 (Suppl 1): 64–8.
- Viviani S., Zinzani P.L., Rambaldi A., Brusamolino E., Levis A., Bonfante V., et al. ABVD versus BEACOPP for Hodgkin's Lymphoma When High-Dose Salvage Is Planned. N Engl J Med 2011; 365: 203–12.
- Burkhardt B., Hermiston M. Lymphoblastic lymphoma in children and adolescents: review of current challenges and future opportunities. Br J Haematol 2019; 185 (6): 1158–70.
- Паина О.В., Кожокар П.В., Боровкова А.С., Фролова А.С., Екушов К.А., Быкова Т.А. и др. Результаты аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток от гаплоидентичного донора с применением неманипулированного трансплантата у детей и подростков, страдающих острыми лейкозами высокой группы риска: опыт 10 лет наблюдения. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2018; 17 (2): 21–7.
- Kozhokar P.V., Paina O.V., Frolova A.S., Rakhmanova Z.Z., Borovkova A.S., Semenova E.V., et al. Efficiency of second allogeneic HSCT in the children with acute leukemias with relapses after first transplantation. Cell Ther Transplant 2019; 8 (4): 33–40.
- Pirogova O.V., Moiseev I.S., Alyansky A.L., Babenko E.V., Darskaya E.I., Slesarchuk O.A., et al. Risk-adapted graft-versus-host disease prophylaxis with post-transplantation cyclophosphamide in related, unrelated and haploidentical stem cell transplantations. Cell Ther Transplant 2016; 5 (3): 54–6.

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-99-113

Молекулярные механизмы инициирования и модуляции аутоиммунного процесса микроорганизмами

Е.П. Киселева¹, К.И. Михайлопуло¹, Г.И. Новик², Н.Ф. Сорока³¹ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», Республика Беларусь, Минск²ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси», Республика Беларусь, Минск³УО «Белорусский государственный медицинский университет», Республика Беларусь, Минск

Инфекционные агенты являются наиболее известными экологическими факторами, провоцирующими и модулирующими аутоиммунные заболевания. Молекулярные механизмы, лежащие в основе этого явления, включают молекулярную мимикрию, распространение эпитопов и обеспечение доступности криптических эпитопов аутоантигенов, активацию в присутствии свидетеля, эффект адъюванта, поликлональную активацию В-лимфоцитов и Т-лимфоцитов бактериальными суперантигенами. Непатогенные микроорганизмы и инфекционные агенты могут также защищать людей от аутоиммунных заболеваний посредством активации регуляторных Т-лимфоцитов и смещения равновесия между Т-лимфоцитами-хелперами классов 1 и 2 в пользу последних. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси».

Ключевые слова: аутоиммунные заболевания, молекулярная мимикрия, распространение эпитопов, доступность криптических эпитопов, эффект адъюванта, суперантигены

Киселева Е.П. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 99–113. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-99-113

Molecular mechanisms of induction and acceleration of autoimmunity by microorganisms

E.P. Kiseleva¹, K.I. Mikhailopulo¹, G.I. Novik², N.F. Soroka³¹Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus, Minsk²Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus, Minsk³Belarusian State Medical University, Republic of Belarus, Minsk

Infectious agents are well-known ecological factors inducing/accelerating human autoimmune diseases. Host infection by a pathogen can lead to autoimmunity via multiple mechanisms: molecular mimicry; epitope spreading and presentation of cryptic epitopes of self-antigen owing to lysis of self-tissue by persisting pathogen or immune cells; bystander activation, adjuvant effect of pathogens as a result of non-specific activation of immune system; polyclonal activation of B-cells by chronic infection; activation of T-cells by bacterial superantigens. Infectious agents and nonpathogenic microorganisms can also protect from autoimmune diseases via activation of regulatory T-cells and displacement of balance between two classes of T helper cells in favor of Th2. This study is supported by the Independent Ethics Committee and approved by the Academic Council of the Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus.

Key words: autoimmune diseases, molecular mimicry, epitope distribution, availability of cryptic epitopes, adjuvant effect, superantigens

Kiseleva E.P., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 99–113. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-99-113

Аутоиммунные заболевания (АЗ) – класс разнородных по клиническим проявлениям хронических заболеваний, развивающихся в результате патологического иммунного ответа на компоненты собственных клеток и тканей (ауто-антигены, ААГ). В современном мире АЗ являются третьей ведущей причиной заболеваемости и смертности после болезней сердца и онкологических заболеваний [1]. Известно более 80 АЗ [2]. Выяснение пусковых факторов и модуляторов аутоиммунного процесса, а также молекулярных механизмов, лежащих в основе патогенеза АЗ, позволяет дать рекомендации по профилактике этих заболеваний и создать фармацевтические средства направленного действия, необходимые для лечения АЗ.

Общепринятой является гипотеза о том, что АЗ возникают только у лиц, имеющих генетическую предрасположенность к этим патологиям. Главным генетическим фактором, предрасполагающим к развитию АЗ, являются определенные аллели генов из системы человеческих лейкоцитарных антигенов (human leucocyte antigens, HLA) или главного комплекса гистосовместимости (major histocompatibility complex, МНС) человека; доказан вклад и других генов [3–7]. Окружающая среда может быть как инициатором (пусковым фактором), так и модулятором ранее возникших АЗ. Наиболее доказанными экологическими факторами, индуцирующими АЗ или модулирующими его симптомы, являются инфекционные агенты (вирусы, бактерии, грибы и

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 01.09.2020
Принята к печати 02.02.2021

Контактная информация:

Киселева Елена Павловна,
ГНУ Институт биоорганической химии НАН Беларуси
Адрес: Республика Беларусь, 220141, Минск, ул. Академика В.Ф. Купровича, 5, корп. 2
E-mail: epkiseleva@yandex.by

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPhO»

Received 01.09.2020

Accepted 02.02.2021

Correspondence:

Elena P. Kiseleva,
Institute of Bioorganic Chemistry,
National Academy of Sciences of Belarus
Address: 5/2 Academician V.F. Kuprevich St., Minsk 220141, Republic of Belarus
E-mail: a.sveshnikova@physics.msu.ru

простейшие). Почти каждое изученное АЗ так или иначе связано с одним или несколькими инфекционными агентами [1].

Цель работы: повести анализ и систематизацию данных современной научной литературы, посвященной проблеме выяснения молекулярных механизмов, лежащих в основе провокации и модуляции АЗ человека микроорганизмами.

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси».

Патогенные микроорганизмы как фактор, провоцирующий и модулирующий аутоиммунные заболевания

Существует несколько механизмов, посредством которых патогены могут инициировать или, что более вероятно, модулировать АЗ. Универсальная классификация этих механизмов отсутствует. Наиболее часто упоминаются и являются общепризнанными 4 механизма: молекулярная мимикрия, активация в присутствии свидетеля, распространение эпитопов и доступность криптических (тайных, ранее скрытых) эпитопов. Первый из упомянутых механизмов является антиген-специфическим, остальные – антиген-неспецифическими. Реже обсуждаются другие антиген-неспецифические механизмы, в частности механизм, известный как эффект адьюванта, и механизм активации иммунной системы бактериальными суперантигенами (САГ).

Молекулярная мимикрия

Молекулярную мимикрию принято считать самым вероятным механизмом, по которому микроорганизм вызывает АЗ [1]. Молекулярной основой этого механизма является наличие в составе микроорганизмов компонентов (биополимеров), содержащих антигенные детерминанты (эпитопы), идентичные или подобные (гомологичные) эпитопам ААГ человека [8]. Проникновение в организм такого инфекционного агента может привести к появлению CD8⁺-цитотоксических Т-лимфоцитов и синтезу антител, перекрестно реагирующих с ААГ человека (рисунки 1А) и, как следствие, вызывающих деструкцию ткани-мишени аутоиммунного процесса (рисунки 2). Концепция молекулярной мимикрии имеет более чем 35-летнюю историю, в ходе которой подверглась существенным изменениям благодаря современным компьютерным технологиям [9].

Следует отметить, что большинство ААГ человека являются белками. Наличие баз данных белков микроорганизмов и человека, а также соответствующих компьютерных программ делает очень простым обнаружение обладателей белков, являющихся гомологами ААГ человека, на основании результатов

сравнения аминокислотных последовательностей *in silico* (рисунки 1Б). К сожалению, широкое использование такого подхода поставило под сомнение саму идею провокации АЗ по механизму молекулярной мимикрии. Так, например, компьютерный анализ, проведенный с использованием базы данных генома человека и баз данных геномов 40 микроорганизмов (20 патогенных и 20 непатогенных) показал, что любой белок человека содержит пента- или гексапептид, гомологичный соответствующему пептиду белков микроорганизмов, используемых в данном исследовании [10]. Поиск гомологов на уровне гексапептидов был обусловлен тем, что с аутоантителами, как правило, взаимодействует детерминанта ААГ, включающая 6 аминокислот [11].

Оказалось, что только 104 белка человека (0,3% протеома) не содержат гомологов бактериальных гексапептидов [10]. Если практически любой инфекционный агент является носителем белка, гомологичного ААГ человека, могут ли быть инфекционные агенты фактором, провоцирующим АЗ, каждое из которых встречается в популяции человека с частотой примерно 1%?

Уже стало очевидным, что при поиске инфекционных агентов, являющихся носителями антигенов-миметиков, следует принимать во внимание тот факт, что антитела/аутоантитела взаимодействуют не только с линейными (последовательными), но и с конформационными (прерывистыми) эпитопами антигена/ААГ [12, 13], а пептиды с высокой степенью гомологии последовательностей могут иметь как сходную, так и принципиально различающуюся конформацию [14]. Кроме того, известны случаи высокой степени гомологии пространственной структуры пептидов микроорганизмов и человека, имеющих сильно различающиеся аминокислотные последовательности [14].

Второй недостаток подхода, состоящего в поиске гомологичных аминокислотных последовательностей, заключается в том, что он не объясняет активацию аутореактивных Т-лимфоцитов. Она происходит в результате презентирования антигенпрезентирующими клетками (АПК) в комплексе с МНС I (CD8⁺-цитотоксическим Т-лимфоцитам) или МНС II (CD4⁺-Т-лимфоцитам-хелперам) пептидов, состоящих из 9–11 и 9–22 [15], а по другим данным – из 8–10 и 15–20 аминокислотных остатков [14] соответственно. При этом происходит образование тройного комплекса МНС – пептид – Т-клеточный рецептор (T-cell receptor, TCR). Чтобы пептид был презентирован, он, во-первых, должен появиться в АПК, что зависит от специфичности их ферментов, осуществляющих протеолиз белков микроорганизмов [15]. Во-вторых, он должен иметь высокое сродство к молекулам МНС АПК. В-третьих, он должен иметь

ляет антигенам патогенов, гомологичным ААГ, провоцировать АЗ по механизму молекулярной мимикрии [23]. В последние годы появились технологии, которые позволяют устанавливать, какие именно аминокислоты являются ключевыми во взаимодействии TCR с МНС [18–21], что обеспечивает основу для прогнозирования потенциала перекрестного распознавания индивидуальных TCR. Кроме того, в настоящее время существуют синтетические комбинаторные библиотеки позиционного сканирования (synthetic combinatorial libraries in positional scanning format, PS-SCL), которые представляют собой коллекции от миллионов до триллионов пептидов, являющихся потенциальными лигандами TCR [24]. С их использованием можно экспериментальным путем обнаружить и идентифицировать потенциальные лиганды TCR. Биометрический анализ на основе PS-SCL объединяет данные

скрининга библиотеки с информацией, полученной из баз данных белковых последовательностей, для идентификации природных пептидных лигандов TCR на основе функциональных данных, а не на основе гомологии последовательностей [24].

Интересно, что существуют также методы предсказания того, синтез каких цитокинов способен индуцировать пептидный лиганд TCR, что позволяет определить, к появлению какого класса Т-лимфоцитов-хелперов (Th), Th1 или Th2, может привести его презентирование АПК. Интернет-ресурсы IL4Pred (URL: <http://crdd.osdd.net/raghava/il4pred/index.php>) [25] и IFNepitope (URL: <http://osddlinux.osdd.net/raghava/ifnepitope/index.php>) [26] позволяют определить потенциал пептидных лигандов TCR к индукции синтеза интерлейкина-4 (IL-4) и γ -интерферона (IFN- γ), характерных для Th2 и Th1 соответственно.

Таблица 1

Критерии участия патогена в провокации АЗ человека по механизму молекулярной мимикрии

Table 1

Criteria suggesting the involvement of a pathogen in the induction of AD in humans by a mechanism of molecular mimicry

№	Критерий Criterion	Метод проверки Method of verification
1	Патоген должен быть связан с началом АЗ A pathogen should be associated with the initiation of AD	Данные статистики, являющиеся эпидемиологическим доказательством связи инфекционного заболевания с последующим развитием АЗ, получают в результате сравнения частоты встречаемости АЗ в группе лиц после инфекционного заболевания и в группе здоровых доноров. Например, у 26% больных с диагнозом: миелиорадикулополиневрит отмечено предшествующее инфекционное заболевание, вызванное <i>Campylobacter jejuni</i> ; в группе лиц той же возрастной группы без указанного АЗ ранее инфицировано не более 1% [28] Statistical data regarded as epidemiological evidence linking infectious diseases and further development of AD are obtained by comparing AD incidence in a group of patients who developed AD after an infectious disease with AD incidence in a group of healthy donors. For example, preceding infection with <i>Campylobacter jejuni</i> was reported in 26% of patients with demyelinating polyradiculoneuropathy, as compared with < 1% of age-matched controls [28]
2	Патоген должен вызвать появление Т-лимфоцитов и антител, перекрестно реагирующих с антигенами хозяина (критерий иммунологической гомологии) A pathogen must induce the production of T cells and antibodies showing cross-reaction with host antigens (a criterion of immunological homology)	Данные иммунохимических тестов, в ходе которых проводится количественное определение антител, способных к взаимодействию и с ААГ человека, и с антигенами патогена, в образцах сыворотки крови пациентов с АЗ; в качестве контроля используются образцы сыворотки крови здоровых доноров. Например, по данным прямого и конкурентного иммуноферментного анализа, в сыворотке крови пациентов со злокачественной миастенией (<i>myasthenia gravis</i>) присутствуют антитела, реагирующие и с альфа-субъединицей рецептора ацетилхолина (аминокислоты 157–170), и с гликопротеином D вируса простого герпеса (аминокислоты 286–293) [29] The results of immunochemical assays for quantitative measurement of antibodies capable of reacting both with human AAGs and pathogen antigens in the serum of patients with AD; serum samples from healthy donors are used as controls. For example, a direct competitive enzyme immunoassay demonstrated that the serum of patients with myasthenia gravis contains antibodies reacting both with acetylcholine receptor alpha subunit (amino acid 157–170) and glycoprotein D of herpes simplex virus (amino acid 286–293) [29]
3	Антиген патогена, введенный в организм животного (активная иммунизация), может вызвать АЗ A pathogen antigen, when introduced to the body of an animal (active immunization) can cause an AD	Результаты экспериментов с животными определенных линий, имеющих генетическую предрасположенность к определенному АЗ; данные гистохимии, анализа антител сыворотки крови, пролиферации Т-лимфоцитов и т. д. Например, иммунизация кроликов как ганглиозидом человека GM1, так и липополисахаридами <i>Campylobacter jejuni</i> приводит к развитию миелиорадикулополиневрита [27]. Мыши, инфицированные <i>Chlamydia</i> , имеют симптомы миокардита, а в их крови содержатся антитела, перекрестно реагирующие с белками миокарда [30] The results of experiments on animals genetically susceptible to certain ADs; the results of immunohistochemistry, serum antibody testing, T cell proliferation, etc. For example, the sensitization of rabbits with GM1 and <i>C. jejuni</i> lipo-oligosaccharide causes demyelinating polyneuropathy [27]. Mice infected with <i>Chlamydia</i> show signs of myocarditis, and their blood contains antibodies exhibiting cross-reaction with myocardial proteins [30]
4	Аутореактивные Т-клетки или аутоантитела, перекрестно реагирующие с антигенами патогена, введенные в организм животного (пассивная иммунизация), могут вызвать АЗ Autoreactive T cells or antibodies cross-reacting with pathogen antigens when introduced to the body of an animal (passive immunization) can cause AD	Результаты экспериментов с животными определенных линий, имеющих генетическую предрасположенность к определенному АЗ; данные гистохимии, анализа антител сыворотки крови, пролиферации Т-лимфоцитов и т. д. Например, добавление <i>ex vivo</i> к нервно-мышечным препаратам мышей антител сыворотки крови больных миелиорадикулополиневритом, перекрестно реагирующих с липополисахаридами <i>Campylobacter jejuni</i> , или моноклональных антител мыши к ганглиозиду человека GD1a (в обоих случаях в присутствии комплемента) приводило к морфологическим и нейрофизиологическим изменениям, аналогичным таковым при миелиорадикулополиневрите человека [27]. Постинфекционный миокардит, индуцированный у A/J-мышей вирусом Коксаки В3, сопровождается появлением CD4 ⁺ -Т-лимфоцитов, перекрестно реагирующих с миозином; введение последних мышам контрольной группы вызывает симптомы, характерные для миокардита [31] The results of experiments on animals genetically susceptible to certain ADs; the results of immunohistochemistry, serum antibody testing, T cell proliferation, etc. For example, <i>ex vivo</i> exposure of nerve-muscle preparations from mice to antibodies from the serum of patients with demyelinating polyneuropathy showing a cross-reaction with <i>Campylobacter jejuni</i> LOS, or the addition of mouse monoclonal antibodies to human ganglioside GD1a (in the presence of a complement source in both cases) led to morphological and neurophysiological changes similar to those observed in demyelinating polyneuropathy in human [27]. Postinfectious myocarditis induced in A/J mice with coxsackievirus B is accompanied with the generation of CD4 ⁺ T cells cross-reacting with myosin. The injection of these CD4 ⁺ T cells into control animals causes symptoms typical of myocarditis [31]

Какими бы современными не были базы данных и программы, используемые для поиска микроорганизмов, имеющих в своем составе белки-миметики ААГ, для убедительного доказательства их роли в провокации АЗ по механизму молекулярной мимикрии результаты анализа *in silico* необходимо дополнить данными медицинской статистики, серологических тестов и экспериментов на моделях животных. Собственно говоря, именно такие данные позволили выдви-

нуть концепцию молекулярной мимикрии как таковую. Общепринято, что только соответствие полученных данных критериям, указанным в *таблице 1* [27], является убедительным доказательством участия патогена в провокации АЗ человека по механизму молекулярной мимикрии.

Примеры провокации АЗ инфекционными агентами по механизму молекулярной мимикрии, а также по другим механизмам, обсуждаемым ниже, представлены в *таблице 2*.

Таблица 2

Примеры инициирования АЗ инфекционными агентами по известным механизмам

Table 2

The examples of AD initiation by infectious agents through well-known mechanisms

Заболевание Disease	Инфекционный агент/вещество микроорганизма/ экспериментальная модель Infectious agent/microorganism substance/experimental model	Механизм инициирования заболевания Mechanism of disease initiation
Лайм-боррелиоз Lyme borreliosis	<i>Borrelia burgdorferi</i>	Молекулярная мимикрия [32] Molecular mimicry [32]
Диабет 1-го типа Type 1 diabetes	Вирус Коксаки В4 Coxsackievirus B4	Активация в присутствии свидетеля [33] Bystander activation [33]
	Ротавирус Rotavirus	Молекулярная мимикрия [34] Molecular mimicry [34]
	Цитомегаловирус человека Human cytomegalovirus	Молекулярная мимикрия [35] Molecular mimicry [35]
	Вирус Коксаки Coxsackievirus	Эффект адьюванта [36] Adjuvant effect [36]
Миокардит Myocarditis	Цитомегаловирус мышей Murine cytomegalovirus	Активация в присутствии свидетеля или молекулярная мимикрия [8, 37] Bystander activation or molecular mimicry [8, 37]
	Вирус Коксаки Coxsackievirus	Молекулярная мимикрия [38] Molecular mimicry [38]
	<i>Chlamydia</i>	Молекулярная мимикрия [39] Molecular mimicry [39]
Рассеянный склероз Multiple sclerosis	Вирус Тейлера Theiler's virus	Активация в присутствии свидетеля и распространение эпитопов [37] Bystander activation and epitope spreading [37]
	Вирус лимфоцитарного хориоменингита Lymphocytic choriomeningitis virus	Молекулярная мимикрия [8, 37] Molecular mimicry [8, 37]
	Энтеротоксин В стафилококка в модели экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита Staphylococcal enterotoxin B in experimental autoimmune encephalomyelitis	САГ [37] Superantigen [37]
	Вирус Семлики Semliki Forest virus	Молекулярная мимикрия [8, 37] Molecular mimicry [8, 37]
Ревматоидный артрит Rheumatoid arthritis	Артритогенный САГ микоплазмы в модели коллаген-индуцированного артрита у мышей Arthritogenic mycoplasma superantigen in collagen-induced arthritis (CIA) mouse model	САГ [37] Superantigen [37]
Синдром Гийена-Барре Guillain-Barre syndrome	<i>Campylobacter jejuni</i>	Молекулярная мимикрия [1, 40] Molecular mimicry [1, 40]
Стромальный кератит Stromal keratitis	Вирус простого герпеса Herpes simplex virus	Молекулярная мимикрия и/или активация в присутствии свидетеля [8, 37] Molecular mimicry and/or bystander activation [8, 37]
Аутоиммунный тиреоидит Autoimmune thyroiditis	Мурамил-дипептид микобактерии или липополисахарид бацилл, лиганды белка 2, содержащего нуклеотид-связывающий домен олигомеризации (nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2, NOD-2) и толл-подобного рецептора (toll-like receptors, TLRs) 4 соответственно в модели экспериментального тиреоидита Mycobacterial muramyl dipeptide or bacillus lipopolysaccharide, nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2 (NOD2) ligands and toll-like receptor 4, respectively, in experimental thyroiditis model	Эффект адьюванта [41] Adjuvant effect [41]
Системная красная волчанка Systemic lupus erythematosus	Двухцепочечная РНК, одноцепочечная РНК, CpG ДНК микроорганизмов, лиганды TLR3, TLR7 и TLR9 соответственно Double-stranded RNA, single-stranded RNA, ligands for toll-like receptors 3, 7 and 9, respectively	Эффект адьюванта [42] Adjuvant effect [42]
Аутоиммунный миокардит как проявление болезни Чагаса Autoimmune myocarditis as a manifestation of Chagas disease	<i>Trypanosoma cruzi</i>	Молекулярная мимикрия [43] и/или поликлональная активация В-лимфоцитов [44] Molecular mimicry [43] and/or polyclonal B cell activation [44]

Распространение эпитопов и предоставление иммунной системе криптоических эпитопов

Два указанных механизма тесно связаны между собой, а в их основе лежит иерархия эпитопов ААГ – от доминирующих до субдоминантных (в том числе криптоических, т. е. скрытых). Включение указанных механизмов происходит в результате повреждения тканей (рисунки 2), причиной которого является прямой лизис клеток человека патогеном или иммунный ответ на патоген.

Цитотоксические $CD8^+$ -Т-лимфоциты, специфичные к антигену инфекционного агента, имитирующему ААГ, лизируют клетки непосредственно. Два других механизма деструкции ткани-мишени проис-

ходят при участии антител к антигену-миметику. Это механизмы комплемент-зависимой цитотоксичности и антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности. Последний из указанных механизмов реализуется при участии естественных киллеров и макрофагов [45–48]. Роль $CD8^+$ -Т-лимфоцитов, естественных киллеров и макрофагов при АЗ не исчерпывается их участием в лизисе клеток ткани-мишени, детально изложена в обзорных статьях [49–51] и является основой новых способов терапии АЗ.

После разрушения ткани-мишени внутриклеточные ААГ становятся доступными иммунной системе и аутоиммунный процесс продолжается без участия инфекционного агента. ААГ, выско-

Рисунок 2

Деструкция ткани-мишени аутоиммунного процесса как следствие появления аутореактивных цитотоксических $CD8^+$ -Т-лимфоцитов и аутоантител [45–48]: А – цитотоксический $CD8^+$ -Т-лимфоцит приводит к разрушению ткани в результате образования комплекса ТСР с ААГ, презентируемым на поверхности клетки-мишени в комплексе с МНС I; Б, В, Г – аутоантитела образуют комплекс с поверхностным ААГ клетки-мишени; Б – в результате взаимодействия Fc-фрагмента аутоантител (CH2-домен иммуноглобулина) с компонентом C1q комплемента происходит повреждение клеток по механизму комплемент-зависимой цитотоксичности; В, Г – в результате взаимодействия Fc-фрагмента аутоантител с рецепторами естественных киллеров (В) или макрофагов (Г) происходит повреждение клеток по механизму антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности

Figure 2

The destruction of target tissue as a result of the appearance of autoreactive cytotoxic $CD8^+$ -T cells and autoantibodies [45–48]: А – a cytotoxic $CD8^+$ -T cell causes tissue destruction as a result of the formation of the complex of TCR and autoantigen presented on the surface of the target cell in complex with MHC I; Б, В, Г – autoantibodies form a complex with a surface autoantigen of the target cell; Б – the interaction of the Fc fragment of autoantibody (immunoglobulin CH2 domain) with the complement component C1q results in cell damage through a mechanism of complement-dependent cytotoxicity; В, Г – the interaction of the Fc fragment of autoantibody with natural killer receptors (В) or macrophages (Г) leads to cell damage through a mechanism of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity

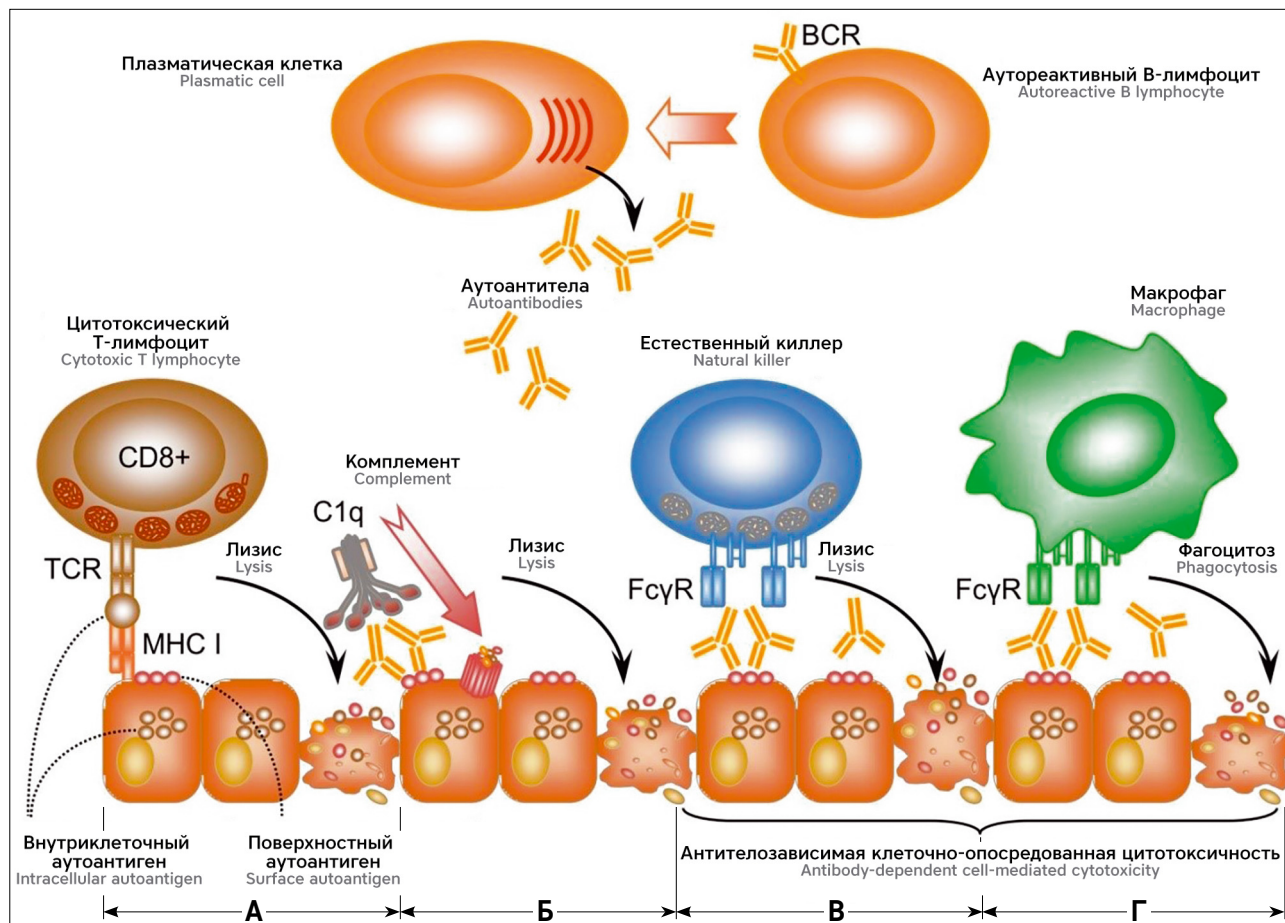
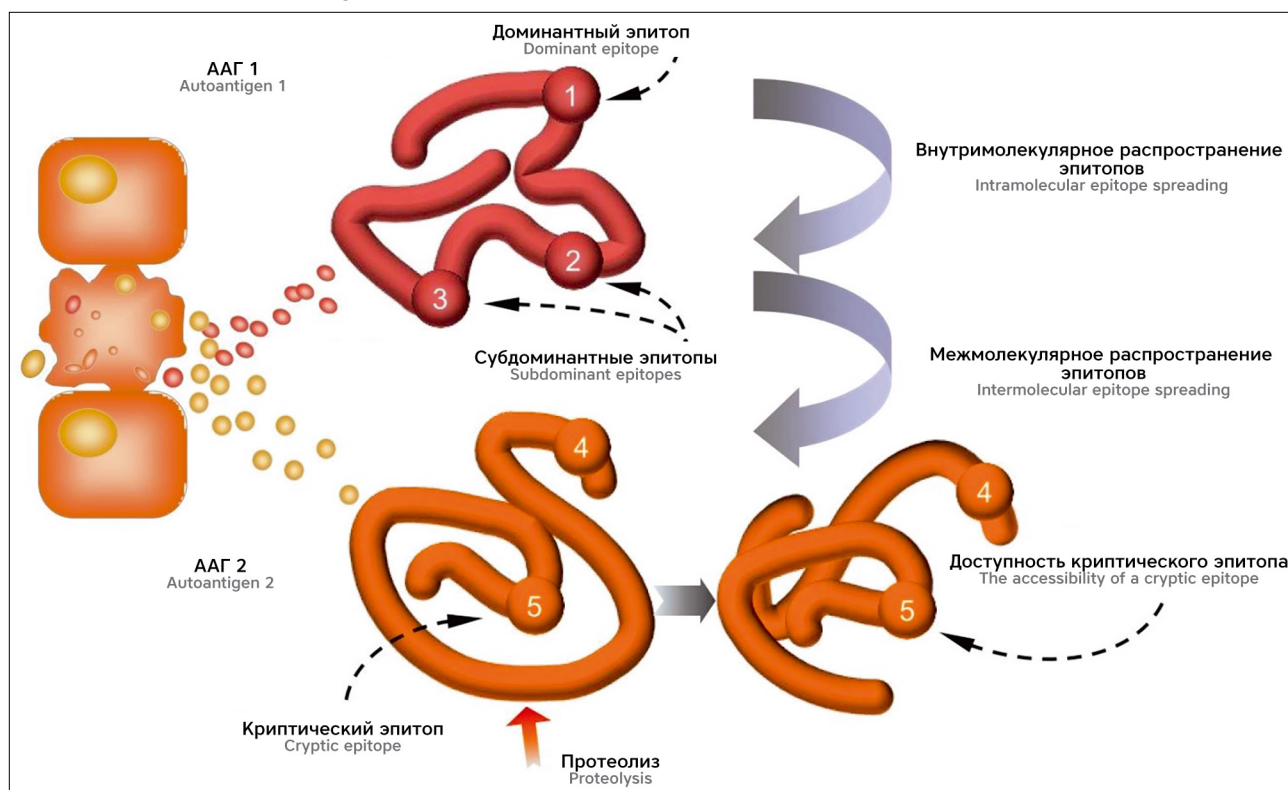


Рисунок 3

Распространение эпитопов и предоставление иммунной системе криптоэпитопов – известные механизмы провокации АЗ инфекционными агентами

Figure 3

Epitope spreading and the presentation of cryptic epitopes to immune system: well-known mechanisms of autoimmune disease induction by infectious agents



божденные из поврежденных тканей, фагоцитируются АПК и предъявляются CD4⁺-Т-лимфоцитам в виде комплексов с МНС II. В результате развивается аутоиммунный ответ, который может стать начальной стадией АЗ.

Механизмы распространения эпитопов и предоставления иммунной системе криптоэпитопов являются вторичными по отношению к механизму молекулярной мимикрии. Инфекционный агент может быть носителем эпитопа, гомологичного доминирующему эпитопу ААГ, и провоцировать АЗ по механизму молекулярной мимикрии. Далее аутоиммунный ответ может распространиться на криптоэпитоп, который становится доступным иммунной системе только в результате протеолиза ААГ, или на другой ААГ той же ткани-мишени (рисунок 3).

Протеолиз ААГ, необходимый для предъявления иммунной системе криптоэпитопов ААГ, могут осуществлять ферменты самих клеток, разрушенных патогеном (например, вирусом, при его выходе из инфицированной клетки) или клетками иммунной системы (например, цитотоксическими CD8⁺-Т-лимфоцитами, вызывающими разрушение инфицированных вирусом клеток). Кроме того, протеолиз ААГ могут осуществлять ферменты АПК, фагоцитирующих компоненты разрушенных клеток [1, 52].

Ниже приведены типичные примеры распространения эпитопов и предоставления иммунной системе криптоэпитопов. Так, при острой ревматической лихорадке, вызванной стрептококком группы А, развивается иммунный ответ на миозин, гомологичный белку М патогена. Затем в аутоиммунный процесс вовлекается сердечный клапан, компонентами которого являются коллаген или ламинин, не имеющие сходства с белком М, в результате чего развивается ревматический миокардит [53]. Вирус энцефаломиелита мышей (вирус Тейлера) вызывает пожизненную инфекцию АПК в центральной нервной системе, что приводит к хронической Т-клеточно-опосредуемой демиелинизирующей болезни мышей, аналогичной рассеянному склерозу человека. В этой модели Т-клеточные аутоиммунные реакции развиваются в иерархическом порядке, начиная с доминирующего энцефалогенного пептида, соответствующего аминокислотам 139–151 протеолипидного белка PLP, главного компонента миелиновой оболочки нервных волокон человека. По мере прогрессирования болезни развивается иммунный ответ на криптоэпитопы того же белка, в частности аминокислоты 178–191 PLP. У пациентов с диагнозом «изолированный моносимптоматический демиелинирующий синдром» аутореактивность Т-клеток к доми-

нантному эпитопу PLP также со временем снижается, и на стадии прогресса болезни до клинически манифестного рассеянного склероза появляется аутореактивность к другим протеолипидным белкам [1, 37].

Активация в присутствии свидетеля

Этот механизм включается, когда вирус инфицирует клетки потенциальной ткани-мишени аутоиммунного процесса или соседней ткани. В месте локализации патогена возникает очаг воспаления, в котором находится множество иммунных клеток. Среди них могут оказаться предсуществующие Т- и В-лимфоциты, специфичные к ААГ потенциальной ткани-мишени аутоиммунного процесса. Следует отметить, что наличие аутореактивных Т- и В-клеток в крови здоровых индивидуумов является давно доказанным фактом [54]. Их неспецифическая активация (происходящая в отсутствие ААГ или антигена-миметика и без участия В-клеточных рецепторов и TCR) в непосредственной близости от ткани-мишени, некоторые клетки которой уже разрушены вирусом или клетками иммунной системы, реагирующими на вирус, приводит к иницированию АЗ (рисунк 4).

Таким образом, инфекционный агент не является непосредственным участником аутоиммунного

процесса, а играет роль свидетеля событий, развивающихся благодаря «случайной встрече» неспецифически активированного потенциально аутореактивного Т-лимфоцита с тканью-мишенью [1, 2, 55].

Механизм активации в присутствии свидетеля убедительно доказан для диабета 1-го типа [56] и рассеянного склероза; во втором случае использовались экспериментальные данные, полученные в модели аутоиммунного энцефаломиелита мышей [57, 58]. Не менее 16 различных вирусов являются кандидатами на роль инфекционных агентов, провоцирующих рассеянный склероз [55].

Эффект адьюванта

Адьювантами называются вещества или комплекс веществ, используемые для усиления иммунного ответа при введении одновременно с иммуногеном. Инфекционный агент может выполнять одновременно функции и антигена, и адьюванта; за эти функции отвечают различные молекулы патогена.

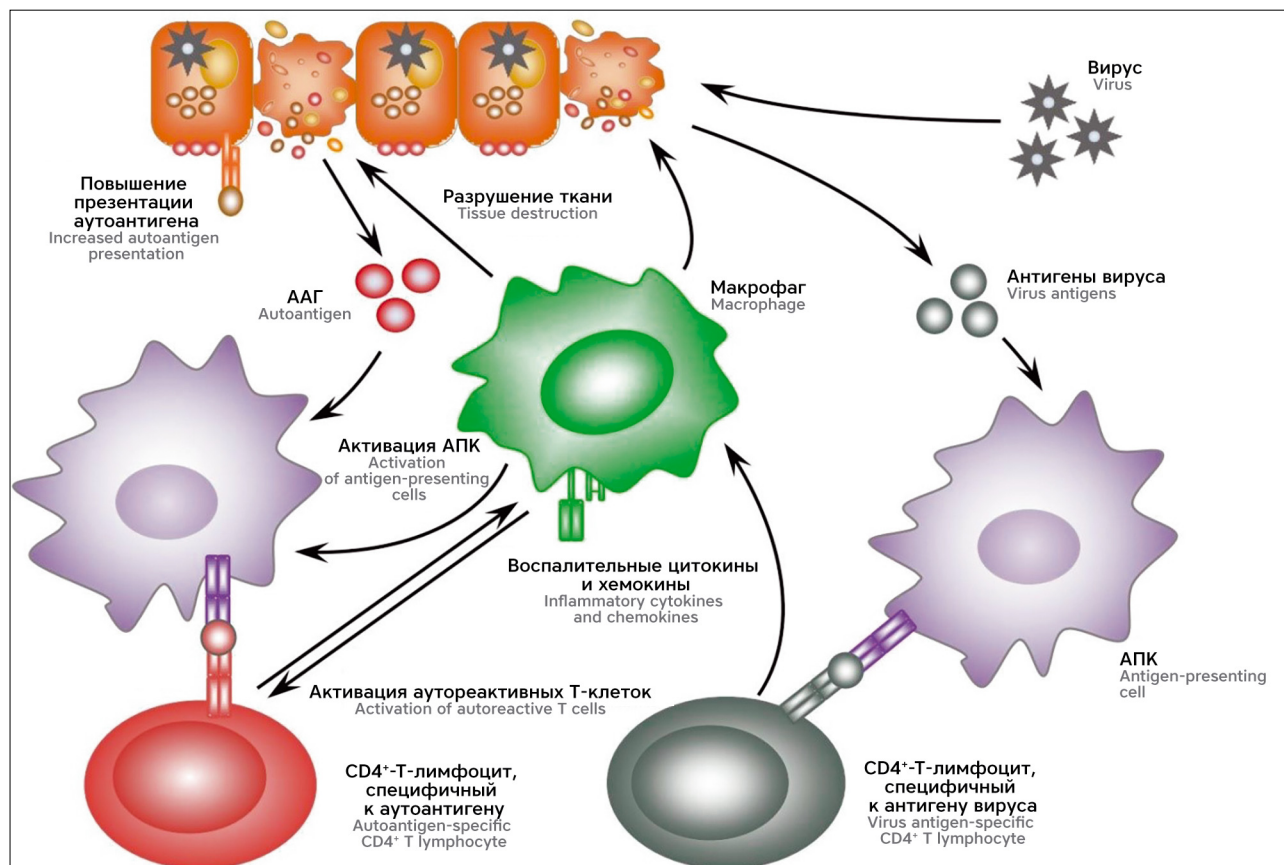
Функции адьюванта выполняют молекулы микроорганизмов, не имеющие аналогов в организме человека и известные как связанные с микроорганизмами молекулярные структуры (microbe-associated

Рисунок 4

Провокация АЗ инфекционным агентом по механизму активации в присутствии свидетеля. Роль свидетеля выполняет аутореактивный Т-лимфоцит, случайно оказавшийся в непосредственной близости к инфицированной ткани

Figure 4

The induction of autoimmune disease by an infectious agent through a bystander activation mechanism. A bystander here is an autoreactive T cell which happened to be close to the infected tissue



molecular patterns, MAMP). Примерами MAMP являются пептидогликан, тейхоевые кислоты, липополисахарид и флагеллин. MAMP взаимодействуют с рецепторами клеток иммунной системы, известными как рецепторы узнавания молекулярных структур (pattern recognition receptors, PRR). Известны 4 класса таких рецепторов: TLRs; рецепторы, отнесенные к группе С-лектинов (C-type lectin receptors, CLR); рецепторы, содержащие домены LRR и NOD (NOD-like receptors, NLRs); рецепторы, подобные белку, кодируемому РНК-чувствительным геном I, индуцируемым ретиноевой кислотой (RNA-sensing retinoic acid-inducible gene I, RIG-I) (RIG-I-like receptors, RLRs) [59]. Структура перечисленных выше PRR, их локализация, природные и синтетические

лиганды, а также сигнальные пути, включающиеся в результате взаимодействия PRR с MAMP, изложены в ряде обзорных статей [60–63].

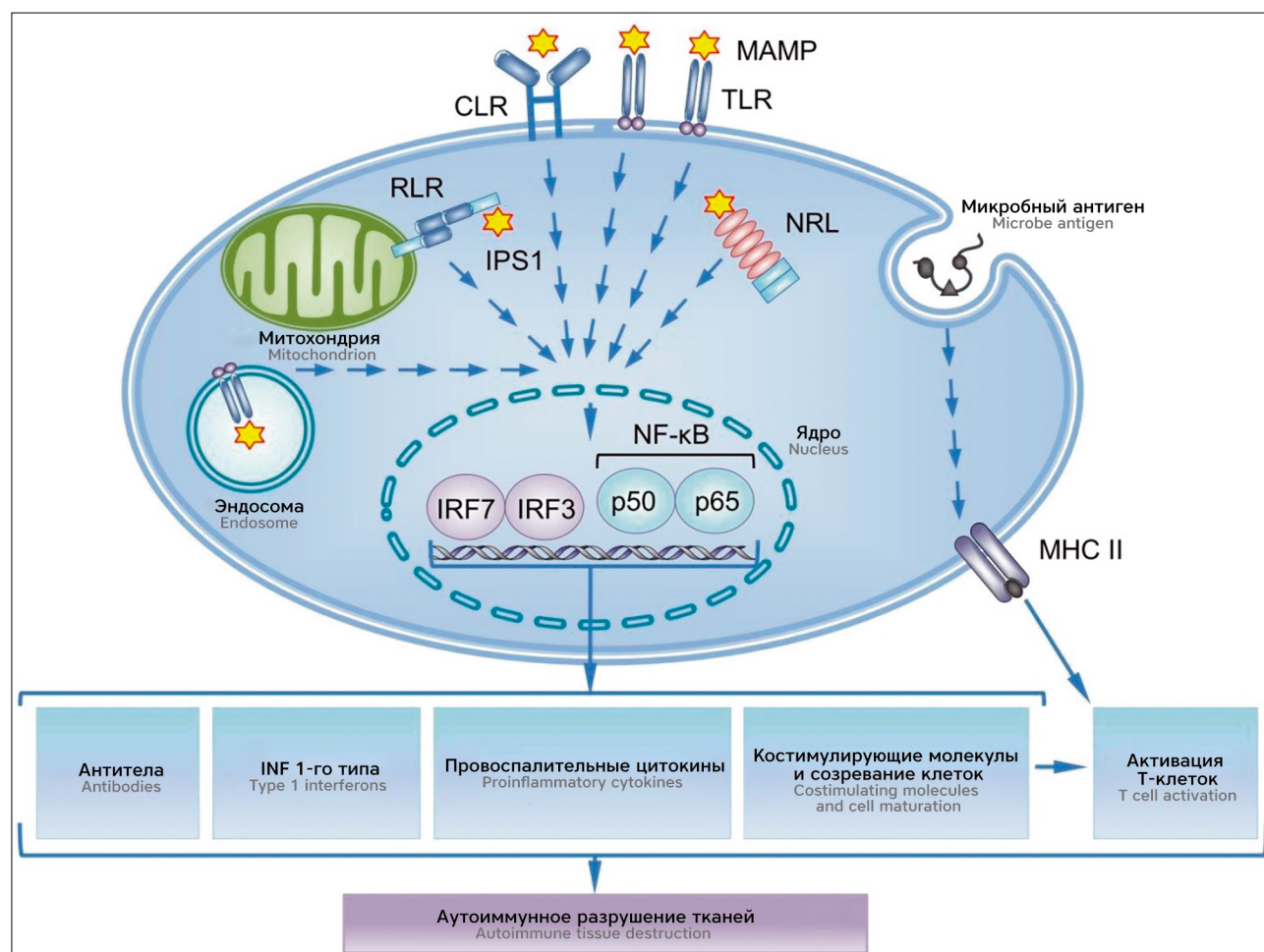
Упомянутые выше сигнальные пути завершаются в ядре клетки иммунной системы [59]. Следствием этого является синтез поверхностных молекул (например, МНС II дендрцитов), характерных для «зрелой» клетки, и секреторных молекул (например, цитокинов), необходимых для активации других клеток иммунной системы (рисунки 5). Любой микроорганизм, как патогенный, так и непатогенный, содержит MAMP, способные активировать предсуществующие аутореактивные В- и Т-лимфоциты непосредственно или опосредованно, через взаимодействие с PRR дендритов, провоцируя тем самым

Рисунок 5

Провокация АЗ инфекционным агентом по механизму, известному как эффект адьюванта. Эффект MAMP реализуется посредством взаимодействия с поверхностными и внутриклеточными PRR. Взаимодействие MAMP с PRR приводит к включению сигнальных путей, завершающихся активацией ядерного фактора «каппа-би» (nuclear factor κ B, NF- κ B), результатом чего является синтез поверхностных молекул, характерных для зрелой клетки, и секреторных молекул, необходимых для активации других клеток иммунной системы (INF I типа, провоспалительные цитокины) или осуществляющих гуморальный иммунный ответ (антитела)

Figure 5

The induction of an autoimmune disease by an infectious agent via a mechanism known as adjuvant effect. Microbe-associated molecular patterns (MAMP) are microbe-specific molecules acting as adjuvants. They interact with surface and intracellular pattern recognition receptors (PRR). The interaction between MAMP and PRR leads to the activation of signaling pathways and subsequent activation of nuclear factor κ B (NF- κ B) resulting in the synthesis of surface molecules characteristic of mature cells and secretory molecules necessary for the activation of other immune cells (type I interferons, proinflammatory cytokines) or capable of eliciting a humoral immune response (antibodies)



АЗ или, с большей вероятностью, усиливая симптомы ранее возникшего АЗ [41, 64, 65].

Y. Shoenfeld впервые озвучил идею об отрицательном эффекте адъювантов, являющихся компонентами вакцин [66], которая в настоящее время является предметом бурных дискуссий [67–69], и ввел термин «аутоиммунный/воспалительный синдром, индуцированный адъювантами (autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants, ASIA [66]).

Хроническая инфекция и поликлональная активация В-лимфоцитов

Длительная инфицированность организма вирусами может привести к АЗ через постоянные поликлональные активации В-лимфоцитов, приводящие к их пролиферации и продукции антител. В ходе этого процесса может произойти моноклональная активация предсуществующего аутореактивного В-лимфоцита, приводящая к продукции аутоантител и лежащая в основе АЗ [1].

Молекулярные механизмы, лежащие в основе этого явления, находятся в стадии изучения. Установлено, что биополимеры микроорганизмов, вызывающие поликлональную активацию В-лимфоцитов, могут являться белками (таблица 3) или иметь небелковую природу.

Белки, вызывающие поликлональную активацию В-лимфоцитов, взаимодействуют с вариабельной областью тяжелой или легкой цепи В-клеточного рецептора (BCR), не совпадающей с участком связывания антигена (паратопом). Такие белки иногда называют В-клеточными САГ, хотя обычно термин «суперантиген» используют по отношению к биополимерам микроорганизмов, неспецифически активирующим Т-лимфоциты. Наиболее известными В-клеточными САГ (таблица 3) являются белок А *Staphylococcus aureus*, белок L *Peptostreptococcus magnus*, gp120 HIV-1 и энтеротоксины А и D стафилококков [73, 79, 80]. Так, например, белок А *Staphylococcus aureus* и gp120 HIV-1 взаимодействуют с доменом тяжелой цепи BCR семейства V_H3 , который присутствует в 30–60% В-лимфоцитов крови человека, причем сайты связывания белка А и gp120 сильно перекрываются [81], белок L *Peptostreptococcus magnus* – с вариабельной областью легкой цепи типа каппа подгрупп I, III и IV (V_{L1} , V_{L3} , V_{L4}) BCR [74, 75], а энтеротоксины А и D стафилококков – с доменами тяжелой цепи BCR семейства V_H3 и V_H4 соответственно [73–75].

Более того, белки некоторых микроорганизмов могут активировать В-лимфоциты как непосредственно, так и опосредованно [82], например, за счет взаимодействия с манноз-связывающими рецепторами АПК, относящимися к классу С-лектинов (рисунк 6).

Молекулярной основой эффектов небелковых биополимеров микроорганизмов, вызывающих поликлональную активацию В-лимфоцитов, является их взаимодействие с PRR. Так, липополисахариды *Escherichia coli* и *Brucella abortus*, а также ДНК или олигонуклеотиды, содержащие CpG мотив, *E. coli*, *Micrococcus lysodeikticus*, *Babesia bovis* и *Trypanosoma cruzi* стимулируют пролиферацию наивных В-лимфоцитов посредством взаимодействия с TLR9 и TLR4 соответственно [44]. Примеры поликлональной активации В-лимфоцитов небелковыми биополимерами следует относить к упоминавшемуся выше эффекту адъюванта, что указывает на условность разделения механизмов неспецифической провокации АЗ микроорганизмами.

В результате активации аутореактивных В-лимфоцитов и продукции ими аутоантител происходит образование иммунных комплексов этих аутоантител

Таблица 3

Белки микроорганизмов, способные индуцировать АЗ по механизму поликлональной активации В-лимфоцитов

Table 3

Microorganism proteins that can induce ADs by a mechanism of polyclonal B cell activation

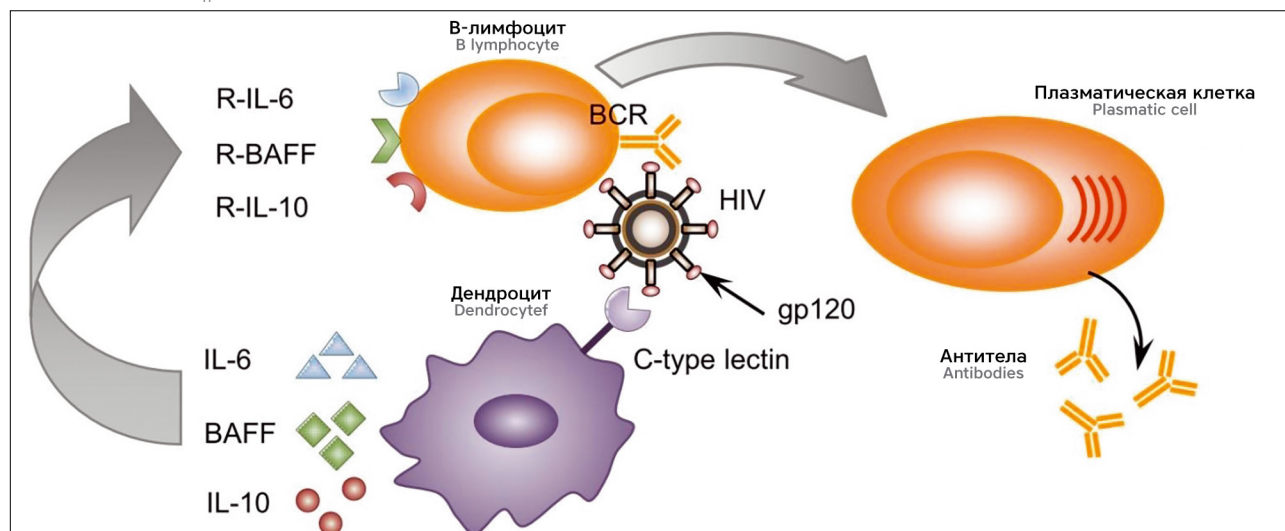
Микроорганизмы Microorganisms		Белки, активирующие В-лимфоциты B cell activating proteins
Вирусы Viruses	Вирус иммунодефицита (HIV-1) Immunodeficiency virus (HIV-1)	Гликопротеин (gp120) [70] Glycoprotein (gp120) [70]
	Вирус гриппа А Influenza A virus	Гемагглютинин [71] Hemagglutinin [71]
Бактерии Bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i>	Белок А [72] Protein A [72]
	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	Белок L [73–75] Protein L [73–75]
	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Белок клеточной поверхности, 75 кДа [76] A cell surface protein, 75-kDa [76]
Простейшие Protists	<i>Trypanosoma cruzi</i>	Белки клеточной поверхности: пролинрацемеза (EC 5.1.1.4) [42]; транссиалидаза (EC 3.2.1.18) [77] Cell surface proteins: proline racemase (EC 5.1.1.4) [42]; trans-sialidase (EC 3.2.1.18) [77]
		Растворимые белки: малатдегидрогеназа митохондрий (EC 1.1.1.37) [1]; глутаматдегидрогеназа (EC 1.4.1.2) [59] Soluble proteins: malate dehydrogenase (EC 1.1.1.37) [1]; glutamate dehydrogenase (EC 1.4.1.2) [59]
	<i>Leishmania major</i>	Секреторный белок: антиген, 24 кДа [64] A secretory protein: antigen, 24-kDa [64]
		Гомолог рибосомального белка S3a [78] A homologue of ribosomal protein S3a [78]

Рисунок 6

Пример поликлональной активации В-лимфоцитов инфекционными агентами. Гликопротеин HIV-1, известный как gp120, активирует В-лимфоциты (в том числе аутореактивные) непосредственно – за счет взаимодействия с доменом тяжелой цепи BCR семейства V_H3 или опосредованно – за счет взаимодействия с манноз-связывающим рецептором АПК, относящемуся к классу C-лектинов (C-type lectin)

Figure 6

An example of a polyclonal activation of B lymphocytes by infectious agents. The glycoprotein of HIV-1 known as gp120 activates B lymphocytes (including autoreactive ones) directly through the interaction with a domain of the heavy chain of BCR belonging to V_H3 family or indirectly through the interaction with mannose-binding C-type lectin



с антигенами, экспрессированными или презентируемыми с МНС I на поверхности клеток ткани-мишени, что приводит к деструкции этих клеток с участием комплемента или естественных киллеров (по механизму антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности) (рисунок 2).

Наиболее известным заболеванием, индуцируемым инфекционными агентами по механизму поликлональной В-клеточной активации, является системная красная волчанка (systemic lupus erythematosus) [83].

Активация иммунной системы Т-клеточными суперантигенами

Т-клеточные САГ – белки патогенных микроорганизмов, способные вызывать массовую неспецифическую активацию Т-лимфоцитов благодаря одновременному взаимодействию с молекулами МНС II на поверхности АПК и фрагментом V_β -TCR на поверхности Т-лимфоцита (рисунок 7). При этом природа антигена, находящегося в комплексе с МНС II, или отсутствие антигена не имеют значения – активируются все Т-лимфоциты, несущие на своей поверхности определенный тип β -субъединиц TCR. В частности, энтеротоксин В *Staphylococcus aureus* провоцирует рассеянный склероз благодаря взаимодействию с β -цепью TCR типов $V\beta 1.1$, $V\beta 3.2$, $V\beta 6.4$ и $V\beta 15.1$ [84]. 25 кДа белок МАРМ *Mycoplasma arthritidis* взаимодействует с $V\beta 6/V\beta 8$ TCR и провоцирует ревматоидный артрит, а белок эндогенного ретровируса человека HERV, продукт гена *K18.3*, взаимодействует с $V\beta 7/V\beta 13.1$ TCR и провоцирует диабет 1-го типа [84].

САГ может вызывать активацию 2–20% предрасполагающих Т-лимфоцитов, большую часть которых составляют $CD4^+$ -Т-хелперы [77]. Они секретируют цитокины, избыток которых приводит к системной токсичности и подавлению адаптивного иммунного ответа, что выгодно патогену. Случайная активация аутореактивных Т-лимфоцитов объясняет причастность САГ к АЗ [85]. В настоящее время известно не менее 19 САГ стафилококков (преимущественно *Staphylococcus aureus*), 12 САГ стрептококков (*Streptococcus pyogenes*, *S. equi* и *S. dysgalactiae*), 2 САГ *Yersinia pseudotuberculosis*, 1 САГ *Mycoplasma arthritidis* и 1 САГ эндогенного ретровируса человека HERV-K [84].

Перечисленные выше механизмы участия инфекционных агентов в патогенезе АЗ не исключают, а дополняют друг друга (таблица 1).

Микроорганизмы как фактор, предотвращающий развитие аутоиммунного заболевания

Как это ни парадоксально, в некоторых случаях инфекционные агенты и непатогенные микроорганизмы могут защищать людей от АЗ и аллергических заболеваний. Научное обоснование этого явления основывается на 2 популярных теориях.

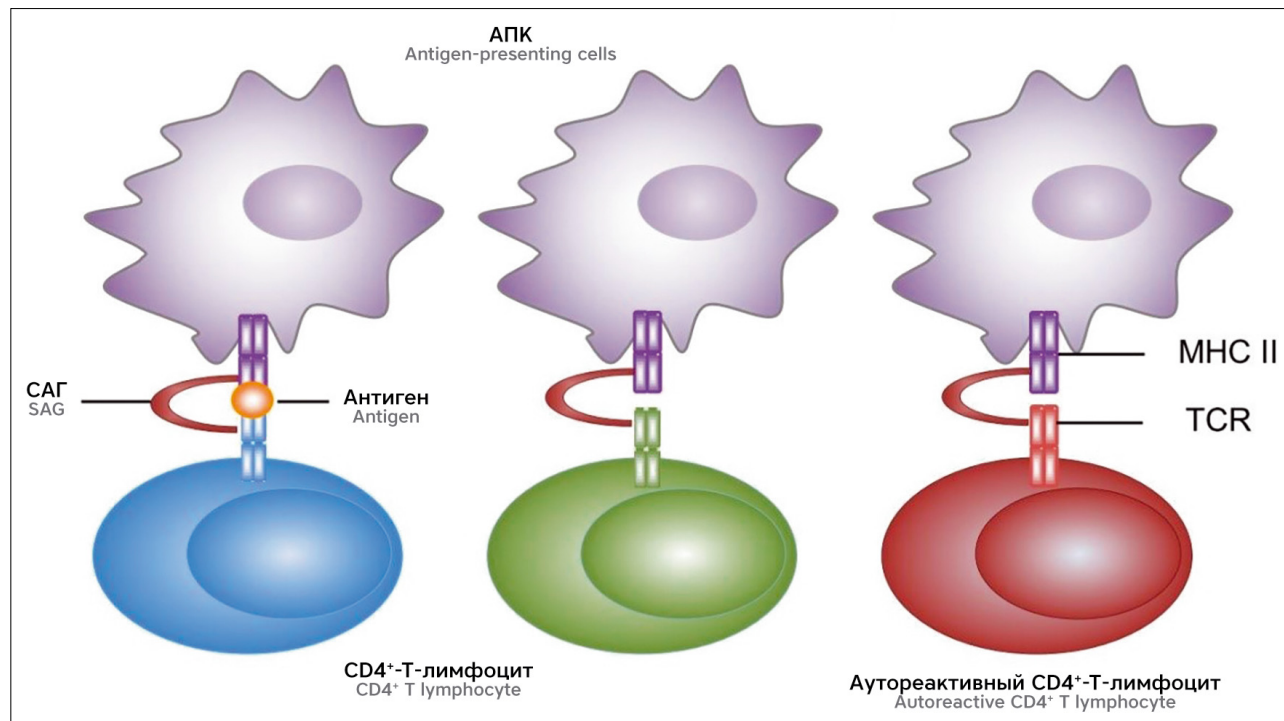
В соответствии с «теорией гигиены», увеличение частоты встречаемости аллергических заболеваний, наблюдаемое во второй половине XX века и характерное для экономически развитых стран, связано с улучшением условий гигиены и, как следствие, со снижением распространенности инфекционных заболеваний. Ответ иммунной системы на инфек-

Рисунок 7

Неспецифическая активация Т-лимфоцитов (в том числе аутореактивных) Т-клеточным САГ. Активация происходит благодаря одновременному взаимодействию САГ с молекулами МНС II на поверхности АПК и фрагментом V_β-TCR на поверхности Т-лимфоцита и не требует наличия антигена

Figure 7

Nonspecific activation of T cells (including autoreactive ones) by a T-cell superantigen (SAG). The activation occurs through a simultaneous interaction of the SAG with MHC class II molecules on the APC surface and with a V_β-TCR fragment on the T cell surface and does not require the presence of an antigen



ционный агент происходит при участии Т-лимфоцитов-хелперов класса 1 (Th1-лимфоцитов). Развитие такого ответа приводит к уменьшению количества Т-лимфоцитов-хелперов класса 2 (Th2-лимфоцитов), поскольку известно, что Th1 и Th2 подавляют друг друга. Избыток Th2, наблюдающийся в отсутствие Th1 (т. е. в отсутствие инфекционного агента, а следовательно, в отсутствие иммунного ответа на этот агент), и является причиной избыточного иммунного ответа на аллергены [86].

В действительности рост частоты встречаемости Th2-опосредованных аллергических заболеваний происходит параллельно с ростом частоты встречаемости хронических воспалительных заболеваний (в частности, болезни Крона и язвенного колита, причиной которых является патологический иммунный ответ на симбионтов кишечника) и АЗ, опосредованных Th1-лимфоцитами [87]. С учетом этого факта «гипотеза гигиены» была подвергнута ревизии, в результате чего появилась «гипотеза старых друзей».

В соответствии с этой гипотезой, симбионты кишечника человека (например, лактобациллы) и другие безвредные для здоровья человека микроорганизмы, находящиеся в кишечнике человека транзитом (например, сапрофитные микобактерии), а также гельминты индуцируют появление регу-

ляторных Т-лимфоцитов (Tregs-лимфоцитов). Последние способны подавлять и Th1-, и Th2-лимфоциты. Таким образом, Tregs-лимфоциты подавляют и блокируют иммунный ответ на аллергены, симбионты кишечника и ААГ, т. е. на 3 группы антигенов, иммунный ответ на которые лежит в основе 3 групп хронических заболеваний, а именно, аллергических, воспалительных заболеваний и АЗ соответственно. Ограниченный контакт со «старыми друзьями», характерный для населения индустриально развитых стран, является причиной недостаточной активности Tregs-лимфоцитов и, как следствие, фактором, провоцирующим развитие 3 типов хронических заболеваний у генетически предрасположенных лиц [87].

Объединение 2 теорий позволяет сделать вывод, который объясняет роль микроорганизмов (патогенных и непатогенных) в снижении степени выраженности симптомов уже развившихся АЗ и снижении заболеваемости АЗ, наблюдаемом в моделях животных и в популяции человека. Он состоит в индукции Tregs-лимфоцитов или Th2-лимфоцитов, следствием которой является уменьшение относительного количества Th1-лимфоцитов, вовлеченных в патогенез ряда АЗ, в частности рассеянного склероза, тиреоидита Хашимото, диабета 1-го типа, аутоиммунного псориаза и др.

Примером позитивного эффекта патогенов является предотвращение аналога системной красной волчанки у мышей и артрита у крыс малярийным паразитом *Plasmodium berghei* и аутоиммунного диабета у мышей вирусом Коксаки [72]. У больных системной красной волчанкой, рассеянным склерозом и диабетом 1-го типа отмечена более низкая встречаемость антител к вирусу гепатита В, что явилось основанием для предположения о предотвращении этих заболеваний указанным вирусом [72].

Разумеется, это не является поводом для использования патогенов для профилактики и лечения АЗ. Тот же эффект может быть достигнут при использовании с этой целью пробиотических микроорганизмов (например, бифидобактерий и лактобацилл), также способных индуцировать появление Tregs-лимфоцитов [88].

Второй возможный механизм положительного эффекта патогенов при АЗ является обратной стороной упоминавшегося выше эффекта адьюванта. Так, локальный воспалительный процесс, являющийся частью реакции иммунной системы на патоген, предрасполагает к возникновению или обострению аутоиммунного процесса в органе, локализованном в непосредственной близости от очага воспаления (отрицательный эффект патогена). Напротив, индуцированный патогеном воспалительный процесс, локализованный в удалении от органа-мишени АЗ, «отвлекает» аутореактивные Т-лимфоциты (положительный эффект патогена).

Третий возможный механизм положительного эффекта патогенов при АЗ реализуется при участии САГ. В частности, показано, что энтеротоксины А и С стафилококка снижают вероятность возникновения аутоиммунного диабета, а энтеротоксин В стафилококка – вероятность волчаночноподобного АЗ в

моделях животных [70]. Каким образом САГ оказывают отмеченные положительные эффекты при АЗ, остается неизвестным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

АЗ наблюдаются примерно у 5–10% населения, причем уровень заболеваемости постоянно растет. Развитие АЗ зависит от генетических и экологических факторов. Инфекционные агенты являются наиболее доказанными экологическими факторами, индуцирующими АЗ у здоровых лиц или усугубляющими симптомы ранее возникших АЗ. Наиболее часто упоминаются и являются общепризнанными 4 механизма провокации (или модуляции) АЗ патогенами: молекулярная мимикрия, активация в присутствии свидетеля, распространение эпитопов и доступность криптоэпитопов. Кроме того, известны эффект адьюванта, механизм поликлональной активации В-лимфоцитов в результате хронической инфекции и механизм активации Т-лимфоцитов бактериальными САГ. Выяснение молекулярных механизмов, лежащих в основе патогенеза АЗ, необходимо для профилактики АЗ и создания фармацевтических средств для специфической терапии АЗ.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Kiseleva E.P. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3304-2277>

Mikhailopulo K.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4577-5964>

Novik G.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4857-6426>

Soroka N.F. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9915-2965>

Литература

1. Kivity S., Agmon-Levin N., Blank M., Shoenfeld Y. Infections and autoimmunity – friends or foes? Trends Immunol 2009; 30 (8): 409–14. DOI: 10.1016/j.it.2009.05.005
2. Ercolani A.M., Miller S.D. The role of infections in autoimmune disease. Clin Exp Immunol 2009; 155 (1): 1–15.
3. Ceccarelli F., Agmon-Levin N., Pericone C. Genetic factors of autoimmune diseases. J Immunol Res 2017; 2017: 2789242. DOI: 10.1155/2017/2789242
4. Mariani S.M. Genes and autoimmune diseases – a complex inheritance. Med Gen Med 2004; 6 (4): 18.
5. Ramos P.S., Shedlock A.M., Langefeld C.D. Genetics of autoimmune diseases: insights from population genetics. Journal of Human Genetics 2015; 60 (11): 657–64.
6. Taneja V., Mangalam A., David C.S. Chapter 27. Genetic predisposition to autoimmune diseases conferred by the major histocompatibility complex: utility of animal models. In: Rose N., Mackay I., editors. The Autoimmune Diseases, 5th edition. San Diego, CA: Academic Press/Elsevier; 2014. Pp. 365–80. Доступно по: <https://doi.org/10.1016/C2009-0-64586-4>. Ссылка активна на 02.02.2021.
7. Wanstrat A., Wakeland E. The genetics of complex autoimmune diseases: non-MHC susceptibility genes. Nat Immunol 2001; 2 (9): 802–9.
8. Oldstone M.B. Molecular mimicry, microbial infection, and autoimmune disease: evolution of the concept. Curr Top Microbiol Immunol 2005; 296: 1–17. DOI: 10.1007/3-540-30791-5_1
9. Fujinami R.S., Oldstone M.B. Amino acid homology between the encephalitogenic site of myelin basic protein and virus: mechanism for autoimmunity. Science 1985; 230: 1043–5.
10. Trost B., Lucchese G., Stufano A., Bickis M., Kusalik A., Kanduc D. No human protein is exempt from bacterial motifs, not even one. Self Nonsself 2010; 1 (4): 328–34. DOI: 10.4161/self.1.4.13315
11. Hebbes T.R., Turner C. H., Thorne A. W., Crane-Robinson C. A “minimal epitope” anti-protein antibody that recognizes a single modified amino acid. Mol Immunol 1989; 26 (9): 865–73.

12. Forsström B., Bistawska Axnäs B., Stengele K.-P., Bühler J., Albert T.J., Richmond T.A., et al. Proteome-wide epitope mapping of antibodies using ultra-dense peptide arrays. *Mol Cell Proteomics* 2014; 13: 1585–97.
13. Peng H.P., Lee K.H., Jian J.W., Yang A.S. Origins of specificity and affinity in antibody-protein interactions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111: E2656–65.
14. Pahari S., Chatterjee D., Negi S., Kaur J., Singh B., Agrewala J.N. Morbid sequences suggest molecular mimicry between microbial peptides and self-antigens: a possibility of inciting autoimmunity. *Front Microbiol* 2017; 8: 1938.
15. Sanchez-Trincado J.L., Gomez-Perosanz M., Reche P.A. Fundamentals and methods for T- and B-cell epitope prediction. *J Immunol Res* 2017; 2017: 2680160. DOI: 10.1155/2017/2680160
16. Lafuente E.M., Reche P.A. Prediction of MHC-peptide binding: a systematic and comprehensive overview. *Current Pharmaceutical Design* 2009; 15 (28): 3209–20.
17. Jensen P.E. Recent advances in antigen processing and presentation. *Nat Immunol* 2007; 8 (10): 1041–8.
18. Wilson D.B., Wilson D.H., Schroder K., Pinilla C., Blondelle S., Houghten R.A., Garcia K.C. Specificity and degeneracy of T cells. *Mol Immunol* 2004; 40 (14–15): 1047–55.
19. Wucherpfennig K.W. T cell receptor crossreactivity as a general property of T cell recognition. *Mol Immunol* 2004; 40 (14–15): 1009–17.
20. Petrova G., Ferrante A., Gorski J. Cross-reactivity of T cells and its role in the immune system. *Crit Rev Immunol* 2012; 32 (4): 349–72.
21. Bentzen A.K., Hadrup S.R. T-cell-receptor cross-recognition and strategies to select safe T-cell receptors for clinical translation. *Immuno-Oncol Technol* 2019; 2: 1–10.
22. Mason D. A very high level of crossreactivity is an essential feature of the T-cell receptor. *Immunol Today* 1998; 19: 395–404.
23. Münz C., Lünemann J.D., Getts M.T., Miller S.D. Antiviral immune responses: triggers of or triggered by autoimmunity? *Nat Rev Immunol* 2009; 9 (4): 246–58.
24. Nino-Vasquez J., Allicotti G., Borras E., Wilson D.B., Valmori D., Simon R., et al. A powerful combination: the use of positional scanning libraries and biometrical analysis to identify cross-reactive T cell epitopes. *Mol Immunol* 2004; 40 (14–15): 1063–74.
25. Dhanda S.K., Gupta S., Vir P., Raghava G.P. Prediction of IL4 inducing peptides. *Clin Dev Immunol* 2013; 2013: 263952. DOI: 10.1155/2013/263952
26. Dhanda S.K., Vir P., Raghava G.P. Designing of interferon-gamma inducing MHC class-II binders. *Biol Direct* 2013; 8: 30.
27. Shahrizaila N., Yuki N. Guillain-Barré syndrome animal model: the first proof of molecular mimicry in human autoimmune disorder. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011: 829129.
28. Rees J.H., Soudain S.E., Gregson N.A., Hughes R.A.C. *Campylobacter jejuni* infection and Guillain-Barré syndrome. *New Eng J Med* 1995; 333 (21): 1374–9.
29. Schwimmbeck P.L., Dyrberg T., Drachman D., Oldstone M.B.A. Molecular mimicry and myasthenia gravis: an autoantigenic site of the acetylcholine receptor α -subunit that has biologic activity and reacts immunochemically with herpes simplex virus. *J Clin Invest* 1989; 84 (4): 1174–80.
30. Bachmaier K., Neu N., de la Maza L.M., Pal S., Hessel A., Penninger J.M. *Chlamydia* infections and heart disease linked through antigenic mimicry. *Science* 1999; 283 (5406): 1335–9.
31. Gangaplara A., Massilamany C., Brown D.M., Delhon G., Pattnaik A.K., Chapman N., et al. Cocksackievirus B3 infection leads to the generation of cardiac myosin heavy chain- α -reactive CD4 T cells in A/J mice. *Clin Immunol* 2012; 144 (3): 237–49.
32. Regner M., Lambert P.H. Autoimmunity through infection or immunization? *Nat Immunol* 2001; 2 (3): 185–8.
33. Filippi C.M., von Herrath M.G. Viral trigger for type I diabetes. *Pros and Cons Diabetes* 2008; 57 (11): 2863–71.
34. Honeyman M.C., Stone N.L., Falk B.A., Nepom G., Harrison L.C. Evidence for molecular mimicry between human T cell epitopes in rotavirus and pancreatic islet autoantigens. *J Immunol* 2010; 184 (4): 2204–10.
35. Roep B.O., Hiemstra H.S., Schloot N.C., de Vries R.R.P., Chaudhuri A., Behan P.O., Drijfhout J.W. Molecular mimicry in type I diabetes: immune cross-reactivity between islet autoantigen and human cytomegalovirus but not coxsackievirus. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 958: 163–5.
36. Fairweather D., Frisnacho-Kiss S., Rose N.R. Viruses as adjuvants for autoimmunity: evidence from coxsackievirus-induced myocarditis. *Rev Med Virol* 2005; 15 (1): 17–27.
37. Getts M.T., Miller S.D. 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: triggering of autoimmune diseases by infections. *Clin Exp Immunol* 2010; 160 (1): 15–21.
38. Root-Bernstein R. Rethinking molecular mimicry in rheumatic heart disease and autoimmune myocarditis: laminin, collagen IV, CAR, and B1AR as initial targets of disease. *Front Pediatr* 2014; 2: 85.
39. Bachmaier K., Neu N., de la Maza L.M., Pal S., Hessel A., Penninger J.M. *Chlamydia* infections and heart disease linked through antigenic mimicry. *Science* 1999; 283 (5406): 1335–9.
40. Ang C.W., Jacobs B.C., Laman J.D. The Guillain-Barré syndrome: a true case of molecular mimicry. *Trends Immunol* 2004; 25 (2): 61–6.
41. Rose N.R. The adjuvant effect in infection and autoimmunity. *Clin Rev Allergy Immunol* 2008; 34 (3): 279–82.
42. Pradhan V.D., Das S., Surve P., Ghosh K. Toll-like receptors in autoimmunity with special reference to systemic lupus erythematosus. *Indian J Hum Genet* 2012; 18 (2): 155–60.
43. Cunha-Neto E., Bilate A.M., Hyland K.V., Fonseca S.G., Kalil J., Engman D.M. Induction of cardiac autoimmunity in Chagas heart disease: a case for molecular mimicry. *Autoimmunity* 2006; 39 (1): 41–54.
44. Montes C.L., Acosta-Rodríguez E.V., Merino M.C., Bermejo D.A., Gruppi A. Polyclonal B cell activation in infections: infectious agents' devilry or defense mechanism of the host? *J Leukoc Biol* 2007; 82 (5): 1027–32.
45. Bogner U., Wall J.R., Schleusener H. Cellular and antibody mediated cytotoxicity in autoimmune thyroid disease. *Acta Endocrinologica* 1987; 116 (1 Suppl): S133–8.
46. Russell J.H., Ley T.J. Lymphocyte-mediated cytotoxicity. *Ann Rev Immunol* 2002; 20 (6): 323–70.
47. Raúl V., Romána G., Murray J.C., Weiner L.M. Chapter 1. Antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC). In: Ackerman M.E., Nimmerjahn F., editors. *Antibody Fc. Linking adaptive and innate immunity*. San Diego, CA, Elsevier/Academic Press; 2014. Pp. 1–27. Доступно по: <https://doi.org/10.1016/C2011-0-07091-6>. Ссылка активна на 02.02.2021.
48. Varela J.C., Tomlinson S. Complement: an overview for the clinician. *Hematol Oncol Clin North Am* 2015; 29 (3): 409–27.
49. Liblau R.S., Wong F.S., Mars L.T., Santamaria P. Autoreactive CD8 T cells in organ-specific autoimmunity: emerging targets for therapeutic intervention. *Immunity* 2002; 17 (1): 1–6.
50. Ma W.-T., Gao F., Gu K., Chen D.-K. The role of monocytes and macrophages in autoimmune diseases: a comprehensive review. *Front Immunol* 2019; 10: 1140.
51. Schleinitz N., Vély F., Harlé J.-R., Vivier E. Natural killer cells in human autoimmune diseases. *Immunology*. 2010; 131 (4): 451–8.
52. Lehmann P.V., Targoni O.S., Forsthuber T.G. Shifting T-cell activation thresholds in autoimmunity and determinant spreading. *Immunol Rev* 1998; 164 (1): 53–61.
53. Cunningham M.W. Rheumatic fever, autoimmunity and molecular mimicry: the streptococcal connection. *Int Rev Immunol* 2014; 33 (4): 314–29.
54. Cohen I.R., Young D.B. Autoimmunity, microbial immunity and the immunological homunculus. *Immunol Today* 1991; 12 (4): 105–10.
55. Fujinami R.S., von Herrath M.G., Christen U., Whitton J.L. Molecular mimicry, bystander activation, or viral persistence: infections and autoimmune disease. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19 (1): 80–94.

56. Pane J.A., Coulson B.S. Lessons from the mouse: potential contribution of bystander lymphocyte activation by viruses to human type 1 diabetes. *Diabetologia* 2015; 58 (6): 1149–59.
57. Lee H.-G., Lee J.-U., Kim D.-H., Lim S., Kang I., Choi J.-M. Pathogenic function of bystander-activated memory-like CD4+ T cells in autoimmune encephalomyelitis. *Nature Communications* 2019; 10: 709.
58. Nogai A., Siffrin V., Bonhagen K., Pfueller C.F., Hohnstein T., Volkmer-Engert R., et al. Lipopolysaccharide injection induces relapses of experimental autoimmune encephalomyelitis in non-transgenic mice via bystander activation of autoreactive CD4 cells. *J Immunol* 2005; 175 (2): 959–66.
59. Kawai T., Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *Int Immunol* 2009; 21 (4): 317–37.
60. El-Zayat S.R., Sibai H., Mannaa F.A. Toll-like receptors activation, signaling, and targeting: an overview. *Bull Natl Res Cent* 2019; 43 (1): 187.
61. Chiffolleau E. C-type lectin-like receptors as emerging orchestrators of sterile inflammation represent potential therapeutic targets. *Front Immunol* 2018; 9: 227.
62. Kim Y.K., Shin J.S., Nahm M.H. NOD-like receptors in infection, immunity, and diseases. *Yonsei Med J* 2016; 57 (1): 5–14.
63. Loo Y.-M., Gale M. Immune signaling by RIG-I-like receptors. *Immunity* 2011; 34 (5): 680–92.
64. Lang K.S., Recher M., Junt T., Navarini A.A., Harris N.L., Freigang S., et al. Toll-like receptor engagement covers T-cell autoreactivity into overt autoimmune disease. *Nat Med* 2005; 11 (2): 138–45.
65. Haas A., Zimmermann K., Oxenius A. Antigen-dependent and -independent mechanisms of T and B cell hyperactivation during chronic HIV-1 infection. *J Virol* 2011; 85 (23): 12102–13.
66. Shoenfeld Y., Agmon-Levin N. 'ASIA'-Autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants. *J Autoimmun* 2011; 36: 4–8.
67. Hawkes D., Benhamu J., Sidwell T., Miles R., Dunlop R.A. Revisiting adverse reactions to vaccines: a critical appraisal of autoimmune syndrome induced by adjuvants (ASIA). *J Autoimmun* 2015; 59: 77–84.
68. Soriano A., Nesher G., Shoenfeld Y. Predicting post-vaccination autoimmunity: Who might be at risk? *Pharmacol Res* 2015; 92: 18–22.
69. van der Laan J.W., Gould S., Tanir J.Y. Safety of vaccine adjuvants: focus on autoimmunity. *Vaccine* 2015; 33 (11): 1507–14.
70. Schiffenbauer J. Superantigens and their role in autoimmune disorders. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis* 1999; 47 (1): 17–24.
71. Rott O., Charreire J., Cash E. Influenza A virus hemagglutinin is a B cell-superstimulatory lectin. *Med Microbiol Immunol* 1996; 184 (4): 185–93.
72. Ram M. The putative protective role of hepatitis B virus (HBV) infection from autoimmune disorders. *Autoimmunity* 2008; 7 (8): 621–5.
73. Viau M., Longo N.S., Lipsky P.E., Björck L., Zouali M. Specific *in vivo* deletion of B-cell subpopulations expressing human immunoglobulins by the B-cell superantigen protein L. *Infect Immun* 2004; 72 (6): 3515–23.
74. Wikström M., Sjöbring U., Drakenberg T., Forsén S., Björck L. Mapping of the immunoglobulin light chain-binding site of protein L. *J Mol Biol* 1995; 250 (2): 128–33.
75. Nilson B.H., Solomon A., Björck L., Akerström B. Protein L from *Peptostreptococcus Magnus* binds to the kappa light chain variable domain. *J Biol Chem* 1992; 267 (4): 2234–9.
76. Watanabe K., Kumada H., Yoshimura F., Umemoto T. The induction of polyclonal B-cell activation and interleukin-1 production by the 75-kDa cell surface protein from *Porphyromonas gingivalis* in mice. *Arch Oral Biol* 1996; 41 (8–9): 725–31.
77. Murphy K., Travers P., Walport M. Chapter 5. Antigen presentation to T-lymphocytes. In: Murphy K., Travers P., Walport M., editors. *Janeway's Immunobiology*. 7th edition. New York, USA: Garland Science; 2008. Pp. 206–7. Доступно по: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10766>. Ссылка активна на 02.02.2021.
78. Cordeiro-Da-Silva A., Borges M.C., Guilvard E., Ouassii A. Dual role of the *Leishmania* major ribosomal protein S3a homologue in regulation of T- and B-cell activation. *Infect Immun* 2001; 69 (11): 6588–96.
79. Domiati-Saad R., Attrep J.F., Brezinschek H.P., Cherrie A.H., Karp D.R., Lipsky P.E. *Staphylococcal* enterotoxin D functions as a human B-cell superantigen by rescuing VH4-expressing B cells from apoptosis. *J Immunol* 1996; 156 (10): 3608–20.
80. Domiati-Saad R., Lipsky P.E. *Staphylococcal* enterotoxin A induces survival of VH3-expressing human B cells by binding to the VH region with low affinity. *J Immunol* 1998; 161 (3): 1257–66.
81. Karray S., Juompan L., Maroun R.C., Isenberg D., Silverman G.J., Zouali M. Structural basis of the gp120 superantigen-binding site on human immunoglobulins. *J Immunol* 1998; 161 (12): 6681–8.
82. Chung N.P.Y., Matthews K., Klasse P.J., Sanders R.W., Moore J.P. HIV-1 gp120 impairs the induction of B cell responses by TLR9-activated plasmacytoid dendritic cells. *J Immunol* 2012; 189 (11): 5257–65.
83. Dörner T., Giesecke C., Lipsky P.E. Mechanisms of B cell autoimmunity in SLE. *Arthritis Research and Therapy* 2011; 13 (5): 243.
84. Proft T., Fraser J.D. Bacterial superantigens. *Clin Exp Immunol* 2003; 133 (3): 299–306.
85. Schiffenbauer J. Superantigens and their role in autoimmune disorders. *Arch Immunol Ther Ex* 1999; 47 (1): 17–24.
86. Strachan D. Family size, infection and atopy: The first decade of the "hygiene hypothesis". *Thorax* 2000; 55 (Suppl 1): 2–5.
87. Rook G.A.W. Microbes, immunoregulation, and the gut. *Gut* 2005; 54 (3): 317–20.
88. Kiseleva E.P., Novik G.I. Probiotics as immunomodulators: substances, mechanisms and therapeutic benefits. In: Mendez-Vilas A., editor. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*. Badajoz, Spain: Formatex Research Center; 2013. 3: 1864–76. Доступно по: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:42172455>. Ссылка активна на 02.02.2021.

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 27.04.2020
Принята к печати 15.09.2020

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-114-127

Клинический анализ видеоизображения базовых двигательных стереотипов «КЛАВИР» для оценки двигательных нарушений у пациентов детского возраста и подростков с острым лимфобластным лейкозом

Н.Н. Митраков¹, А.В. Щербуха¹, П.А. Шафран², К.А. Воронин¹, О.А. Лайшева³

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

²ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. А.К. Ерамишанцева Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

³Российская детская клиническая больница ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Контактная информация:

Митраков Николай Николаевич,
заведующий центром медицинской
реабилитации консультативного
отделения ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им.
Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: lokomokolya@gmail.com

Возникающие у пациентов детского возраста с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) в процессе лечения двигательные нарушения требуют более дифференцированного подхода к диагностике и выбору реабилитационных технологий. Цель работы: изучить смысловую структуру паттерна вертикализации (из положения лежа на спине в положение стоя) и разработать методику диагностики двигательных нарушений и оценки эффективности медицинской реабилитации у детей и подростков с ОЛЛ. Было проведено проспективное сравнительное нерандомизированное исследование. Работа поддержана независимым этическим комитетом и одобрена ученым советом ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Всего в исследовании приняли участие 184 ребенка, которые были распределены на 3 группы. Группа 1 (исследовательская) – пациенты с ОЛЛ, проходившие лечение в Центре ($n = 48$, медиана возраста 14 лет). Группа 2 (контрольная) – пациенты с различными тяжелыми заболеваниями (острый миелоидный лейкоз, первичные иммунодефицитные состояния, злокачественные заболевания центральной нервной системы, опухоли костей и т. д.), также проходившие лечение в Центре ($n = 69$, медиана возраста 14,5 года). Группа 3 (контрольная) – здоровые дети и подростки ($n = 67$, медиана возраста 14,2 года). Исследовались характеристики видеоизображения процесса вертикализации у условно здоровых детей (группа 3) и у пациентов Центра (группы 1 и 2) с последующим сравнительным анализом. Удалось выявить, формально описать и этапировать критерии видеоизображения инвариантных черт ациклического локомоторного стереотипа вертикализации из положения лежа на спине в положение стоя на двух ногах на горизонтальной поверхности. Выявлены этапы вертикализации и клинически значимые варианты паттернов вертикализации, легко детектируемые на видеоизображении. Объективизация анализа видеокритериев инвариантных черт ациклического локомоторного стереотипа вертикализации достигнута путем регистрации временных характеристик видеоизображения этапов локомоторного стереотипа. В результате расчетов ракурс-независимости и межисследовательской вариабельности были выявлены наиболее репрезентативные этапы видеоизображения локомоторного стереотипа процесса вертикализации. Анализ количественных характеристик локомоторного теста вертикализации позволил обнаружить статистически достоверные для данной выборки отличия здоровых детей от пациентов с онкологической патологией. Клинический анализ видеоизображения рефлексолокомоций «КЛАВИР» дает значительный объем объективных данных при клинической оценке диагностического теста вертикализации у пациентов детского возраста и подростков, получающих лечение по поводу ОЛЛ.

Ключевые слова: двигательные нарушения, диагностика двигательных нарушений, клинический видеоанализ, анализ движений, видеоанализ движений, рефлексолокомоции, острый лимфобластный лейкоз

Митраков Н.Н. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 114–127. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-114-127

Clinical analysis of video recordings of the basic motor patterns (CLAVIR) for the assessment of movement disorders in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia

N.N. Mitrakov¹, A.V. Shcherbukha¹, P.A. Shafran², K.A. Voronin¹, O.A. Laysheva³

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

²Eramishantsev City Clinical Hospital, Moscow Health Department, Moscow

³Russian Children's Clinical Hospital of Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Movement disorders arising in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL) during treatment require a more differentiated approach to diagnosis and the choice of rehabilitation methods. The aim of this study was to investigate the conceptual structure of supine-to-stand (STS) transition patterns and to develop a method for the diagnosis of movement disorders and the assessment of the effectiveness of medical rehabilitation in children and adolescents with ALL. We carried out a prospective comparative non-randomized study. 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. The study included 184 children who were assigned to three groups. Group 1 (study group) included patients with ALL treated at the Center ($n = 48$, the median age was 14.0 years). Group 2 (control group) included patients with various serious diseases (acute myeloid leukemia, primary immunodeficiency, CNS malignancies, bone tumors, etc.) who also underwent treatment at the Center ($n = 69$, the median age was 14.5 years). Group 3 (control group) included healthy children and adolescents ($n = 67$, the median age was 14.2 years). We analyzed the characteristics of video recordings of the supine-to-stand process in apparently healthy children (Group 3) and in the patients treated at the Center (Groups 1 and 2) and then performed comparative analysis. We managed to detect, document, and divide into phases the video-based criteria of invariant characteristics of the acyclic locomotor pattern of the STS movement (from a supine to standing position with both feet on the floor). We identified the STS movement phases and clinically significant variants of STS transition patterns which were easily detectable on the video recordings. The objectivity of the analysis of the video-based criteria of invariant characteristics of the STS movement was achieved by the registration of timing characteristics of the locomotion pattern phases on video recordings. By calculating the coefficients of variation for observations from different angles and inter-researcher variability, we detected the most representative phases of the STS movement pattern on video recordings. A quantitative analysis of the STS test performance revealed significant differences between healthy controls and children with oncological diseases. The clinical analysis of video recordings of the basic motor patterns (CLAVIR) contributes a substantial amount of objective data to the clinical assessment of the diagnostic supine-to-stand test results in children and adolescents treated for ALL.

Key words: *movement disorders, diagnosis of movement disorders, clinical video analysis, movement analysis, video movement analysis, reflexolocomotion, acute lymphoblastic leukemia*

Mitrakov N.N., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 114–127.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-114-127

Применение методов физической терапии у пациентов детского возраста с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) для коррекции осложнений, возникающих в ходе лечения, становится актуальнее с каждым годом в связи с увеличением их выживаемости [1].

Высокая выживаемость пациентов при педиатрических онкологических заболеваниях вообще и при ОЛЛ в частности привела к тому, что в настоящее время все большее внимание уделяется минимизации краткосрочных и долгосрочных неблагоприятных последствий как основного заболевания, так и химио- и лучевой терапии [2]. Уровень выживаемости детей и подростков с онкологическими заболеваниями составляет от 70 до 95%, половина из них – это пациенты с ОЛЛ. Доказано, что 60% долгожителей имеют хронические проблемы со здоровьем, связанные с последствиями лечения в течение многих лет или десятилетий после завершения терапии [1, 3, 4]. Таким образом, в настоящее время крайне актуальными являются мероприятия по повышению качества жизни детей, переживших ОЛЛ [5].

Интерес к физической активности пациента в первую очередь связан с ее потенциальным воздействием на снижение влияния краткосрочных и долгосрочных побочных эффектов лечения на качество жизни [6, 7]. Физическая активность оказывает благотворное влияние на широкий спектр функ-

циональных систем организма человека, включая центральную нервную, кардиореспираторную, опорно-двигательную [8]. Текущие данные свидетельствуют о том, что постельный режим, традиционно рекомендуемый пациентам детского возраста с онкологическими заболеваниями, усугубляет некоторые побочные эффекты терапии, в частности провоцирует потерю двигательной активности и мышечной силы [9].

На сегодняшний день нам удалось найти всего 5 рандомизированных контролируемых исследований в педиатрической онкологии, посвященных применению физической терапии для коррекции осложнений [10–14]. Из них 3 были проведены у детей с гемато-онкологическими новообразованиями [10, 11, 13], 1 – у смешанной группы детей с онкологическими заболеваниями (солидными опухолями и острым миелобластным лейкозом (ОМЛ)) [12] и 1 – у пациентов детского возраста с солидными образованиями [14].

Большинство публикаций на тему применения физической терапии у детей в процессе лечения онкологических заболеваний посвящено поискам универсального критического показателя для оценки двигательных нарушений. Универсальный критерий часто приводит к значительному сужению взгляда на проблему применения методов физической терапии для решения некоторых локальных задач, связанных

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 27.04.2020

Accepted 15.09.2020

Correspondence:

Nikolay N. Mitrakov,
Head of Medical Rehabilitation Center of the
Outpatient Department, Dmitry Rogachev
National Medical Research Center
of Pediatric Hematology, Oncology and
Immunology, Ministry of Healthcare of the
Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: lokomokolya@gmail.com

с осложнениями, возникающими в ходе лечения от онкологического заболевания (например, коррекция функции тыльного сгибания голеностопных суставов в качестве оценки эффективности коррекции полиневритических нарушений в целом) [11, 13].

Наиболее актуальные направления исследований, связанные с применением методов физической терапии в рамках лечения онкологических заболеваний:

- 1) повышение толерантности к физической нагрузке [10, 12, 13, 15, 16];
- 2) повышение общего уровня активности [17];
- 3) коррекция наиболее актуальных двигательных нарушений (в основном объем движений и мышечная сила) [11, 13, 18, 19];
- 4) влияние физической терапии на болевой синдром [20, 21];
- 5) улучшение качества жизни [22–25];
- 6) влияние физической терапии на эмоционально-психологическое состояние, мотивацию и работоспособность [36];
- 7) коррекция лимфатического оттока [27];
- 8) коррекция выделительной функции [27];
- 9) коррекция массы/состава тела [16, 28, 29];
- 10) влияние на течение основного заболевания или сроки лечения [30–32];
- 11) влияние на частоту инфекционных осложнений [33];
- 12) влияние на качество и продолжительность сна [34];
- 13) экономическая эффективность применения активной физической терапии в сравнении с методами стандартного выхода из больницы [35].

В отношении спектра нарушений, подвергаемых коррекции при помощи физической терапии у взрослых больных, перенесших онкологическое заболевание, было проведено ретроспективное исследование, в котором анализировались функции, связанные с мобильностью у амбулаторных пациентов, получивших физическую терапию после окончания лечения основного заболевания. В этом исследовании принимали участие также и подростки с 14 лет. Частота встречаемости тех или иных расстройств в данной работе непоказательна для педиатрии, так как большинство пациентов, принимавших участие в исследовании, взрослые, но сам спектр расстройств, связанных с двигательной активностью, достаточно показателен в том числе и для пациентов с ОЛЛ [27].

Публикации 2017–2018 гг. отражают наиболее актуальный на сегодня список показателей при исследовании двигательной функции у пациентов детского возраста, получающих лечение от злокачественного заболевания. Наиболее широкими в этом направлении стали работы исследователей, занима-

ющихся изучением влияния контролируемой физической активности у пациентов детского возраста, получающих лечение от ОЛЛ [8, 9]. Ими разработан наиболее перспективный в настоящее время протокол диагностики двигательных нарушений и контроля эффективности физической интервенции у пациентов детского возраста в ходе лечения ОЛЛ Stoplight Program – программа «Светофор» [8]. Программа представляет собой исчерпывающий перечень диагностических и лечебных процедур, стратифицированных в зависимости от тяжести возникших двигательных осложнений у пациента. К недостаткам программы «Светофор» можно отнести:

1. Громоздкость диагностического комплекса. Полное обследование пациента может занимать несколько часов и редко может быть выполнено за 1 день, что не позволяет реализовать программу у пациента, находящегося в процессе терапии ОЛЛ.

2. Второй недостаток, вероятно, обусловлен первым – рекомендуемое начало программы – 6–8 нед от начала терапии ОЛЛ. Трудно обосновать и провести такое громоздкое обследование пациенту, находящемуся в тяжелом состоянии и в психологическом замешательстве после только что объявленного диагноза.

При этом прошедшие от начала терапии 1,5–2 мес до старта программы «Светофор», на наш взгляд, являются критичными для формирования двигательных осложнений, что не позволяет такие сроки начала двигательной реабилитации считать ранними.

Все проанализированные нами диагностические подходы к двигательным проблемам, возникающим у детей, получающих терапию от онкологических заболеваний, сводятся к попыткам выбора и коррекции некоторой условно выбранной значимой функции на фоне оценки стандартными клиническими тестами. Например, ограничение подвижности коленных и голеностопных суставов выбрано как основной критерий двигательных осложнений высокодозной химиотерапии и гиподинамии при лечении пациентов с ОЛЛ. Эти критерии объявляются факторами, влияющими на походку. Затем проводится исследование, изучающее влияние упражнений на растяжку (stretching) и общее укрепление (strengthening) в коленных и голеностопных суставах на подвижность и мышечную силу соответственно. В исследуемой группе выявляется лучшая функция исследуемых показателей (объем движений гониометром в коленном и голеностопном суставах и мышечная сила в них динамометром), чем в контрольной. На основании этого делается вполне корректный вывод о позитивном влиянии упражнений на функции, значимые для походки [18].

Необходимо учитывать, что острая и подострая лекарственная полинейропатия в спектре невроло-

гических осложнений в ходе лечения ОЛЛ встречается приблизительно в 6% случаев, а общий процент неврологических осложнений с двигательными нарушениями составляет более 50% [36]. Почти 80% из всех неврологических осложнений, возникающих в ходе лечения ОЛЛ, – это энцефаломиелополинейропатии [36]. Очевидно, что факторы, влияющие на походку, не ограничиваются тугоподвижностью в голеностопном и коленном суставах, а также снижением мышечной силы в разгибателях бедра и тыльных сгибателях стопы.

В программе «Светофор» предпринята попытка учета всех специфических актуальных факторов путем раздельного учета двигательных функций: баланса, нарушения глобального моторного стереотипа и уровня общей активности пациента плюс к уже перечисленным ограничениям объема движения и снижения мышечной силы. Это очень актуальный подход, который, к сожалению, имеет ряд уже описанных нами ограничений, не позволяющих заниматься диагностикой, профилактикой и лечением двигательных нарушений, на самых ранних сроках ОЛЛ.

Наша гипотеза заключалась в том, что возникающие у пациентов детского возраста с ОЛЛ в процессе лечения двигательные нарушения являются звеньями одной патогенетической цепи и требуют более дифференцированного подхода к диагностике и физической терапии. Контрактуры коленных и голеностопных суставов являются компенсацией недостатка афферентации от дистальных отделов нижних конечностей, характерной для сенсорной полинейропатии. В этом случае прямое возвращение объема движений в этих суставах может разрушить физиологический паттерн походки. В случае с сенсорной полинейропатией мышечная слабость разгибателей бедра и тыльных сгибателей голеностопа чаще всего является следствием антальгического режима при гиперпатии. Силовая тренировка в этом случае будет усиливать болевой синдром. При формировании компенсаторных паттернов моторной полиневритической походки гипермобильность голеностопных суставов и некоторая инерционность движений компенсируются при участии вестибулярной системы и зрительного контроля.

Функция движений представляет собой гармоничный баланс между системой регуляции движений, представленной центральной нервной системой (ЦНС), и непосредственно мобильностью, имеющей две составляющие – стабилизацию (предвосхищающую постуральный контроль) и передвижение/перемещение, которое может быть реализовано за счет реактивного постурального контроля и реализации программы коактивации системы «агонист–антагонист».

У детей с ОЛЛ возникает крайне сложный дисбаланс этой функциональной системы, потому что спектр одномоментно пораженных факторов со стороны патогенеза ОЛЛ и применяемых методов лечения разнонаправлен.

Это не позволяет выстроить логическую структуру первичности и последовательности ограничений функции движения, но понятным становится постоянно наблюдаемый в клинике факт, что прямая тренировка движений для скомпрометированных групп мышц будет малоэффективна – в процессе необходимого упражнения с тренировкой предвосхищающего постурального контроля иллюзию положительной динамики будут давать доминирующие в этом случае мышцы-стабилизаторы, что на фоне непосредственного токсического или лучевого поражения нервной и мышечной ткани укрепляет патологический двигательный стереотип при некотором действительном расширении двигательных возможностей пациента. При смешанной полинейропатии или энцефаломиелополинейропатии сочетание патологических факторов будет еще сложнее. Создание дизайна исследования, доказывающего описанную гипотезу, может столкнуться с рядом технических (субъективность исполнения методической программы физической интервенции) и этических сложностей.

В связи с этим определилась необходимость кардинально нового подхода к диагностике двигательных нарушений.

Мы предлагаем разработанный нами метод видеоанализа «КЛАВИР» онтогенетически обусловленного процесса вертикализации пациента из положения лежа на спине в положение стоя (floor to stand), что позволит выявить скомпрометированный уровень нейрофизиологической организации двигательной активности. Выбор двигательной интервенции при этом осуществляется не по принципу восполнения отдельных элементов двигательного состава паттерна вертикализации, а по принципу восстановления смысловой структуры утраченного или нарушенного моторного навыка [37].

В настоящее время не удалось найти ни одной публикации, посвященной анализу спектра двигательных нарушений у пациентов детского возраста, получающих лечение ОЛЛ, и методам контроля эффективности физической терапии, применяемой на раннем этапе реабилитации (до 6 нед от начала терапии).

Цель настоящего исследования: изучить смысловую структуру паттерна вертикализации (из положения лежа на спине в положение стоя) и разработать методику диагностики двигательных нарушений и оценки эффективности медицинской реабилитации у детей и подростков с ОЛЛ.

Задачи исследования:

- 1) изучить ракурс-независимые инвариантные черты видеоизображения теста на вертикализацию из положения лежа на спине в положение стоя;
- 2) выявить и описать смысловую структуру теста на вертикализацию;
- 3) разработать методику оценки временных характеристик инвариантных черт видеоизображения теста на вертикализацию;
- 4) определить клинические характеристики моторных составляющих (двигательного состава) теста на вертикализацию;
- 5) систематизировать изменения смысловой структуры и двигательного состава теста на вертикализацию, характерные для пациентов с ОЛЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа поддержана независимым этическим комитетом и одобрена ученым советом ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

Проведено проспективное сравнительное нерандомизированное исследование. На нулевом этапе был поставлен эксперимент. Проводилась видеозапись процесса вертикализации из положения лежа на спине в положение стоя на двух ногах у 30 испытуемых (условно здоровых детей сотрудников ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России) с медианой возраста 8,3 года. Всем испытуемым была дана инструкция последовательно вертикализироваться из положения лежа в положение стоя не повторяющимися способами максимальное количество раз. На полученных видеозаписях исследователями при помощи маркированного поиска на замедленном видеоизображении с повторами и реверсами проводился поиск общих признаков вертикализации, не зависящих от ее способа.

На основных этапах в исследовании приняли участие 3 группы пациентов (таблица 1):

1-я (исследовательская) группа – дети и подростки с ОЛЛ, проходящие лечение в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева ($n = 48$, медиана возраста 14 лет);

2-я (1-я контрольная) группа – дети и подростки с другими заболеваниями, распределенные по диагнозам, проходящие лечение в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева ($n = 69$, медиана возраста 14,5 года):

- пациенты с ОМЛ ($n = 25$; медиана возраста 15,5 года);
- больные с идиопатическими иммунодефицитами (ИИД) ($n = 31$; медиана возраста 16 лет);
- пациенты с нейроонкологическими заболеваниями ($n = 4$; медиана возраста 5 лет);
- больные со злокачественными новообразованиями костей ($n = 4$; медиана возраста 14,7 года);

- пациенты с различными патологиями, которые встречались по одному и не могли быть объединены в группы (апластическая анемия, новообразования мягких тканей лица и др.) ($n = 3$; медиана возраста 15 лет);

3-я (2-я контрольная) группа – условно здоровые дети и подростки, проходившие сборы в летнем спортивном лагере Федерации Айкидо России, занимающиеся первый год ($n = 67$, медиана возраста 14,2 года).

Всем испытуемым проводили:

1. Анкетирование по общим данным (пол, возраст, рост, вес, факторы настороженности, основной диагноз и причина обращения к реабилитологу). Факторы настороженности – это факторы, непосредственно оказывающие влияние на двигательную активность, такие как изоляция, боль, тромбозы, стомы, дренажи и т. д., всего 43 показателя. Они были распределены на 3 уровня опасности: зеленый, желтый, красный. Красный – факторы, исключающие возможность активной двигательной интервенции; желтый – факторы, требующие индивидуального решения о возможности двигательной интервенции; зеленые – факторы, оказывающие влияние на объем интервенции без ограничения самой интервенции (например, изоляция). Факторы суммировались и пересчитывались в коэффициент с максимальным значением до единицы, где единица означала абсолютные противопоказания к двигательной интер-

Таблица 1
Распределение участников исследования по группам

Table 1
Allocation of the study participants to the groups

Группа Group	Диагноз Diagnosis	Число пациентов, n Number of patients, n	Медиана возраста, годы Median age, years
Исследуемая (группа 1) Study group (group 1)	ОЛЛ ALL	48	14
Контрольная (группа 3) Control group (group 3)	Условно здоровые Apparently healthy	67	14,2
Контрольная (группа 2) Control group (group 2)	Различные тяжелые заболевания: Various severe diseases:	69	14,5
	ОМЛ AML	25	15,5
	ИИД IID	31	16
	НОЗ NOD	4	5
	ЗНОК MNB	4	14,7
	Другое Other	3	15

Примечание. НОЗ – нейроонкологические заболевания; ЗНОК – злокачественные новообразования костей; другое – апластическая анемия, новообразования мягких тканей лица, нейробластома забрюшинного пространства
Note. ALL – acute lymphoblastic leukemia; AML – acute myeloid leukemia; IID – idiopathic immunodeficiency; NOD – neuro-oncological diseases; MNB – malignant neoplasm of bones; other – aplastic anemia, neoplasms of soft tissues of the face, retroperitoneal neuroblastoma

венции. Этот коэффициент учитывался при конечных расчетах.

2. Видеозапись на индивидуальные мобильные устройства (смартфоны/планшеты) процесса вертикализации из положения лежа на спине в положение стоя на двух ногах.

3. Видеозапись загружалась в программу DartFish для маркированного поиска на замедленном видеоизображении базового рефлексолокомоторного стереотипа с повторами и реверсами.

4. Расчеты инвариантности (ракурс независимости) выявленных черт путем вычисления коэффициента вариации значений временных показателей, маркированных на параллельных видеозаписях с 5 разных ракурсов одного и того же процесса вертикализации. Данные получены путем рандомного предъявления 5 разным исследователям видеозаписей с разных ракурсов одного и того же процесса вертикализации таким образом, чтобы маркируемый период в своем числовом значении был скрыт от исследователя. Другими словами, исследователи отмечали точки на непрерывной временной шкале видеозаписи, не видя числовых значений маркера.

5. Расчеты межисследовательской вариативности путем вычисления ее коэффициента в процентах значений временных показателей инвариантных черт видеоизображения локомоторного стереотипа вертикализации, полученных от 64 исследователей, впервые проводивших подобный анализ. Всем исследователям предъявлялся 1 набор из 10 видеозаписей разных пациентов, локомоторного стереотипа с одной и той же письменной инструкцией по маркированию инвариантных черт. Полученные данные сравнивались с эталонными результатами опытного исследователя.

6. Двухэтапный статистический анализ с кластеризацией зависимости полученных результатов от пола, возраста, факторов настороженности и диагнозов с целью обнаружить закономерности между этими показателями и временными характеристиками инвариантных черт видеоизображения локомоторного стереотипа вертикализации.

На первом этапе сравнивались условно здоровые испытуемые из 2-й контрольной группы со всеми пациентами НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, вошедшими в исследование (исследуемая группа + 1-я контрольная группа).

На втором этапе сравнивались пациенты с ОЛП из исследуемой группы с пациентами с другими онкологическими заболеваниями, вошедшими в 1-ю контрольную группу (таблица 2).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате нулевого эксперимента удалось выявить следующие закономерности двигательных

стереотипов вертикализации из положения лежа на спине в положение стоя на двух ногах:

1. Основные способы вертикализации, реализованные испытуемыми:

- вертикализация комфортным способом через поперечное скручивание (наиболее вариативный способ: по типу переноса центра тяжести через точку опоры (симметричный и асимметричный W-образные, «по турецки», через стопы), по способу формирования опоры для отрыва центра тяжести от нее (с задним, боковым и передним упорами));
- вертикализация комфортным способом через продольное скручивание (два способа: с выходом на четвереньки или в положение на одном колене);
- вертикализация через «мостик» и стойку на руках (два варианта: латерализовано или симметрично);
- вертикализация через «мостик» с выходом на стопы (два варианта: латерализовано или симметрично);
- вертикализация подъем-разгибом (два варианта: с упором руками или затылком);
- вертикализация через кувырок назад (два варианта: через голову или плечо).

2. Пространственные характеристики движений вне зависимости от способа вертикализации:

- скручивание и/или поворот. Это первая фаза вертикализации, характеризуется снижением площади опоры за счет преимущественно продольного или поперечного скручивания относительно продольной или поперечной оси тела соответственно. При продольном скручивании можно выделить по инициальной фазе плечевой или тазовый тип поворота, в то время как при поперечном скручивании встречается краниокаудальный и каудокраниальный типы. Может также встречаться смешанный вариант, когда оба вида скручивания представлены в равных долях;
- смещение пятна контакта к центру тяжести. Это вторая фаза вертикализации, характеризуется

Таблица 2
Этапность дизайна исследования

Table 2
Stages of the study design

Группа Group	Число пациентов, n Number of patients, n	Медиана возраста, годы Median age, years	Диагноз Diagnosis	1-й этап* 1st stage*	2-й этап* 2nd stage*
Исследуемая (группа 1) Study group	48	14	ОЛП ALL		
Контрольная (группа 2) Control (group 2)	69	14,5	ДОЗ Other		
Контрольная (группа 3) Control (group 3)	67	14,2	Условно здоровые Apparently healthy		

Примечание. Красные ячейки – исследуемая группа; синие ячейки – группа сравнения; ДОЗ – другие онкологические заболевания
Note: red cells of the table represent the study group; blue cells of the table represent the comparison group; other – other oncological diseases

проекционным сближением дистальных отделов туловища и конечностей с фактическим центром тяжести. Фактический центр тяжести может быть сформирован как каудально, близко к реальному центру масс тела, так и краниально, например, при каудокраниальном скручивании;

- отрыв фактического центра тяжести от опоры. Это третья фаза вертикализации, характеризуется отрывом и удержанием центра тяжести над опорой. Наиболее характерной в этой фазе является поза на четвереньках;

- подведение опоры под центр тяжести или накатывание центра тяжести над опорой. Это четвертая фаза вертикализации, характеризующаяся приведением проекции центра тяжести над опорными конечностями;

- центрация – это завершающая фаза вертикализации, характеризующаяся формированием сбалансированной конечной позы стоя на двух ногах.

Наиболее сложными для детекции являются фазы скручивания/поворота (фаза «Поворот») и смещения пятна контакта (фаза «Смещение»), так как они могут сочетаться с другими фазами, а фаза подведения опоры под центр тяжести (фаза «Опора») сложна для детекции из-за своей скоротечности.

Таким образом, были установлены инвариантные черты локомоторного стереотипа вертикализации, не зависящие от способа вертикализации. Всего 5 фаз:

1. «Поворот» – фаза скручивания и/или поворота.
2. «Смещение» – фаза смещения пятна контакта к фактическому центру тяжести.
3. «Отрыв» – фаза отрыва фактического центра тяжести от опоры.
4. «Опора» – фаза подведения опоры под центр тяжести или накатывания центра тяжести над опорой.
5. «Центрация» – фаза стабилизации в конечном положении стоя на двух ногах.

Коэффициент вариации при расчете ракурса независимости временных характеристик инвариантных черт видеоизображения локомоторного стереотипа вертикализации представлен на *рисунке 1* и равен 20% для детекции фазы «Поворот»; 54% для детекции фазы «Смещение»; 4% для детекции фазы «Отрыв»; 28% для детекции фазы «Опора»; 6% для детекции фазы «Центрация». Данный расклад свидетельствует, что наибольшую проблему для детекции вызывают фазы «Поворот», «Смещение» и «Опора». Причем только фаза «Смещение» превышает критическую величину коэффициента варируемости в 33%.

Коэффициент вариации при изучении межисследовательской варируемости представлен на *рисунке 2*.

При маркировании всех показателей межисследовательская варируемость оставалась в пределах

Рисунок 1
Коэффициент вариации маркирования инвариантных черт локомоторного стереотипа вертикализации в зависимости от ракурса видеосъемки

Figure 1
The coefficient of variation of markers indicating invariant characteristics of the supine-to-stand movement pattern depending on the angle of video recording

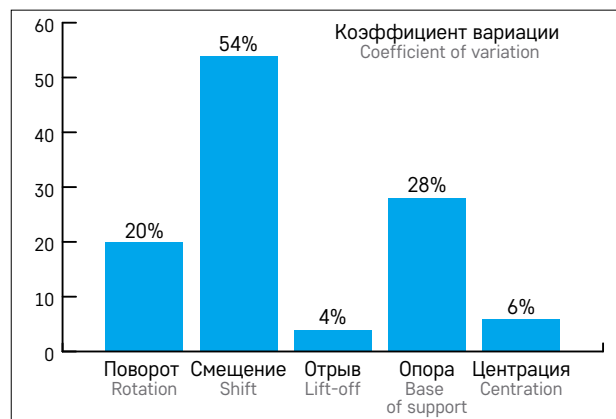
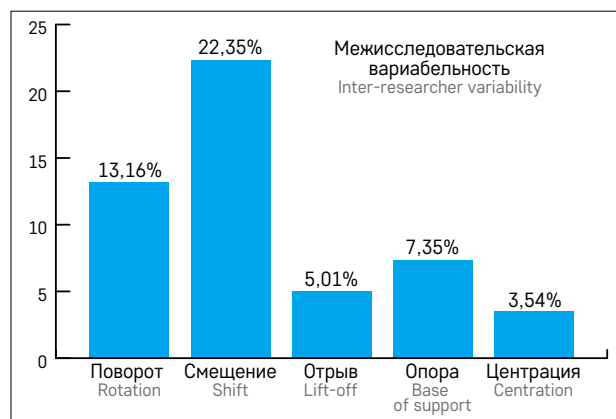


Рисунок 2
Коэффициент вариации при изучении межисследовательской варируемости

Figure 2
The coefficient of variation for inter-researcher variability



допустимых значений – до 33%. Также сохранилась тенденция внесения наибольшей ошибки со стороны маркирования фаз «Поворот» и «Смещение».

Для проспективного исследования пациентов было принято решение считать репрезентативными только фазы «Отрыв», «Опора» и «Центрация» как наиболее стабильные для маркирования и анализа.

Кластеризация данных, полученных в проспективном исследовании:

- различия по возрасту составили 1,5 года в пользу контрольной группы ($p < 0,005$). Таким образом, группы оказались несколько неоднородными по возрасту. Распределение по возрасту показано на *рисунке 3*. Однако при кластеризации количественных показателей абсолютного времени выполнения теста выяснилось, что возраст не оказывает статистически значимого влияния на распределение временных показателей теста (*рисунк 4*);

• группы также оказались неоднородны по полу ($p < 0,05$). В группе условно здоровых лиц было на 25% больше мальчиков. Распределение по полу показано в таблице 3. После кластеризации данных было установлено, что в данной выборке пол не оказывает статистически значимого влияния на временные характеристики локомоторного теста (рисунок 5);

Рисунок 3

Диаграмма возраста пациентов. Возраст различается на 1,5 года (95% ДИ 0,5–2,8 года) в пользу экспериментальной группы ($p < 0,005$)

Figure 3

A plot illustrating patients' age. The study group patients were 1.5 years older than the controls (95% confidence interval (CI) 0.5–2.8 years, $p < 0.005$)

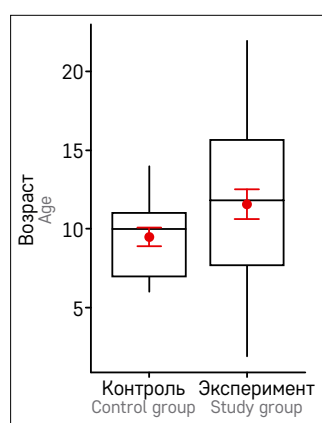


Рисунок 4

При кластеризации не выявлено значимой зависимости временных характеристик теста от возраста испытуемых

Figure 4

Clustering revealed no significant dependence between time characteristics of the test and the age of the study subjects

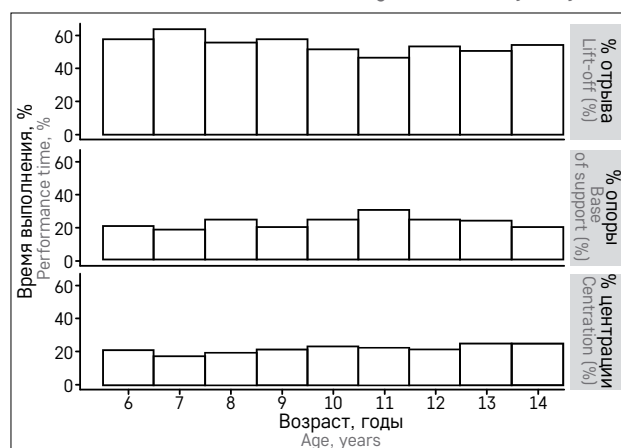


Таблица 3

Абсолютное число пациентов по полу в группах

Table 3

Distribution of patients in groups by sex

Группа пациентов Patient group	Пол, n (%) Sex, n (%)	
	мужской male	женский female
Контроль Control group	49 (73,1)	18 (26,9)
Эксперимент Study group	60 (51,3)	57 (48,7)

• количественные характеристики локомоторного теста. Сравнение абсолютного времени выполнения теста в целом и абсолютного времени выполнения его отдельных фаз. Так как в группе условно здоровых детей получилось нормальное распределение – медиана и среднее в одной точке, а в группах с пациентами наблюдался сдвиг распределения в сторону низких значений, поэтому для описания абсолютного времени используется медиана (таблица 4). Установлено статистически значимое различие условно здоровых испытуемых (контроль) с пациентами (эксперимент) ($p < 0,05$). Пациенты выполняют весь тест и его фазы по отдельности значительно медленнее условно здоровых детей. Распределение временных характеристик показано на рисунке 6;

• показатели «настороженности», т. е. факторы способные оказать влияние на двигательную активность (стомы, катетеры, послеоперационные рубцы, реакция «трансплантат против хозяина» и т. д.) также не оказали статистически значимого влияния на временную структуру теста в рамках исследования (рисунок 7);

• зависимость от двигательной патологии. Вследствие несовершенства выборки (почти все наблюдения – это пациенты с полинейропатией) определить доверительные интервалы (ДИ) для различных видов двигательной патологии не удалось из-за малого количества наблюдений пациентов с патологией отличной от подострой лекарственной полинейропатии (рисунок 8);

• зависимость от основного диагноза. Статистически достоверных различий от временных характеристик репрезентативных этапов локомоторного стереотипа вертикализации в нашей выборке выявить не удалось (рисунок 9);

• в результате кластерного анализа выборки данных методом К-средних удалось получить до 14 групп кластеров (рисунок 10). В качестве наиболее репрезентативных были выбраны варианты из 3–6 кластеров. Лучше всего классифицировать по соответствию клиническим данным удалось вариант с 3 кластерами (рисунок 11). Первый кластер соответствует пациентам с преимущественным поражением ЦНС, второй – с преимущественно ортопедической патологией и третий кластер – с практически изолированной подострой полинейропатией (рисунок 12).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нулевой эксперимент можно считать успешным, так как удалось выявить, формально описать и этапировать критерии видеоизображения инвариантных черт ациклического локомоторного стереотипа вертикализации из положения лежа на спине

Таблица 4
Распределение по времени

Table 4
Distribution by time

Показатель Parameter	Группа Group	Минимум Min	Q1	Медиана Median	Q3	Максимум Max	Среднее Average	СКО MSD	Нижний 95% ДИ Lower 95% CI	Верхний 95% ДИ Upper 95% CI	N	NA
Общее время теста Total test time	Контроль Control	1,6	2,2	2,4	2,8	4,2	2,5	2,5	2,4	2,6	103	0
	Эксперимент Study	3,0	7,6	9,5	13,1	33,4	11,2	11,2	10,1	12,2	117	0
Отрыв Lift-off	Контроль Control	0,7	1,1	1,3	1,5	2,7	1,3	1,3	1,3	1,4	103	0
	Эксперимент Study	0,2	3,6	5,3	7,3	29,8	6,2	6,2	5,4	6,9	117	0
Опора Base of support	Контроль Control	0,2	0,4	0,6	0,7	1,7	0,6	0,6	0,5	0,6	103	0
	Эксперимент Study	0,0	1,2	2,0	3,3	14,6	2,6	2,6	2,2	3,1	117	0
Центрация Centration	Контроль Control	0,3	0,4	0,6	0,7	1,9	0,6	0,6	0,6	0,6	103	0
	Эксперимент Study	0,0	1,4	1,9	2,9	10,3	2,3	2,3	2,0	2,7	117	0

Примечание. СКО – среднее квадратическое отклонение.
Note. MSD – mean square deviation

Рисунок 5
Распределение влияния на временные характеристики локомоторного теста в зависимости от пола испытуемых после кластеризации. NA – 2 пациента с не указанным полом

Figure 5
Distribution of the influence on time characteristics of the STS test depending on the sex of the subjects after clustering. NA – in 2 patients, the sex in not specified

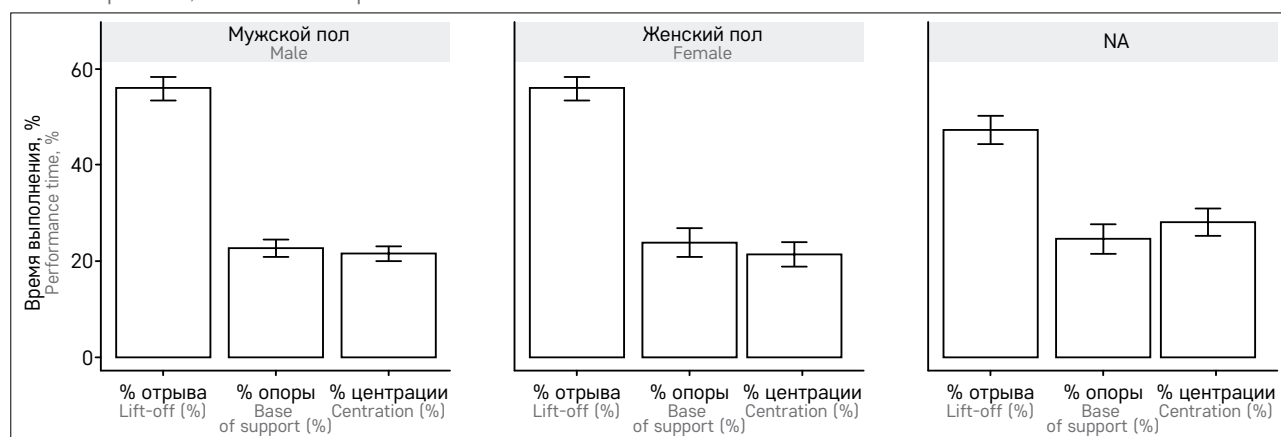


Рисунок 6
Количественное распределение временных характеристик локомоторного теста вертикализации у условно здоровых детей (контроль) и пациентов с онкологическими заболеваниями (эксперимент). Проверка с помощью статистических критериев – во всех случаях $p < 0,05$ (разница статистически значимая)

Figure 6
A quantitative distribution of time characteristics of the STS test in apparently healthy children (control group) and in patients with oncological diseases (study group). Verification using statistical tests: in all cases, $p < 0.05$ (the difference is statistically significant)

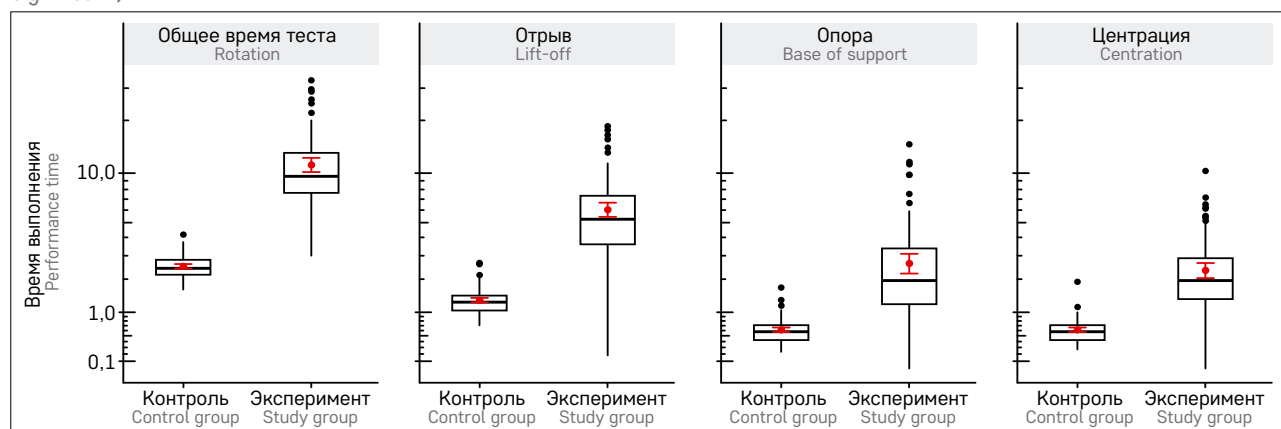
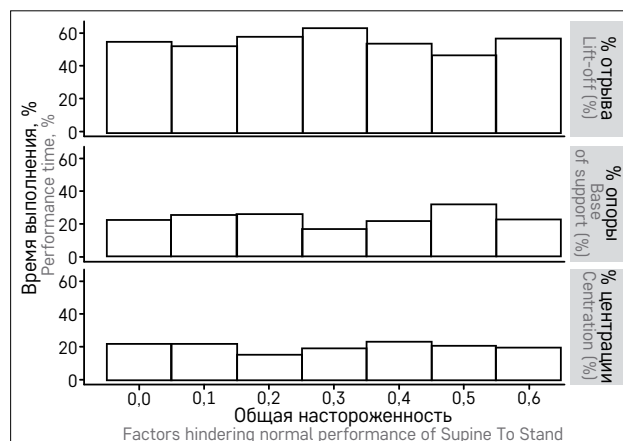


Рисунок 7

Зависимость распределения временных показателей локомоторного теста от наличия факторов, способных оказать влияние на двигательную активность (стомы, катетеры, реакция «трансплантат против хозяина» и т. д.)

Figure 7

The dependence of the distribution of time parameters of the STS test on factors that can affect motor activity (stomas, catheters, graft versus host disease, etc.)



в положение стоя на двух ногах на горизонтальной поверхности. Выявлены этапы вертикализации и клинически значимые варианты ее паттернов легко детектируемые на видеоизображении. Объективизация анализа видеокритериев инвариантных черт ациклического локомоторного стереотипа вертикализации достигнута путем регистрации временных характеристик видеоизображения этапов локомоторного стереотипа. В результате расчетов ракурса независимости и межисследовательской вариабельности были выявлены наиболее репрезентативные этапы видеоизображения локомоторного стереотипа процесса вертикализации.

Анализ количественных характеристик локомоторного теста вертикализации позволил обнаружить статистически достоверные для данной выборки отличия здоровых детей от пациентов с онкологической патологией. Сразу же обнаружались и некоторые проблемы дизайна исследования. Так как целью работы было выявить закономерности

Рисунок 8

Форма столбиковых гистограмм временных характеристик репрезентативных этапов вертикализации при различных видах двигательных нарушений. ВН – вестибулярные нарушения; ЭПН – экстрапирамидные нарушения; ПНП – полиневропатия; СПУ – синдром патологической усталости; ОН – ортопедические нарушения (эндопротезирование)

Figure 8

Bar histograms showing time characteristics of representative STS phases in various types of movement disorders. VD – vestibular disorders; EPD – extrapyramidal disorders; PNP – polyneuropathy; CFS – chronic fatigue syndrome; OD – orthopedic disorders (endoprosthesis)

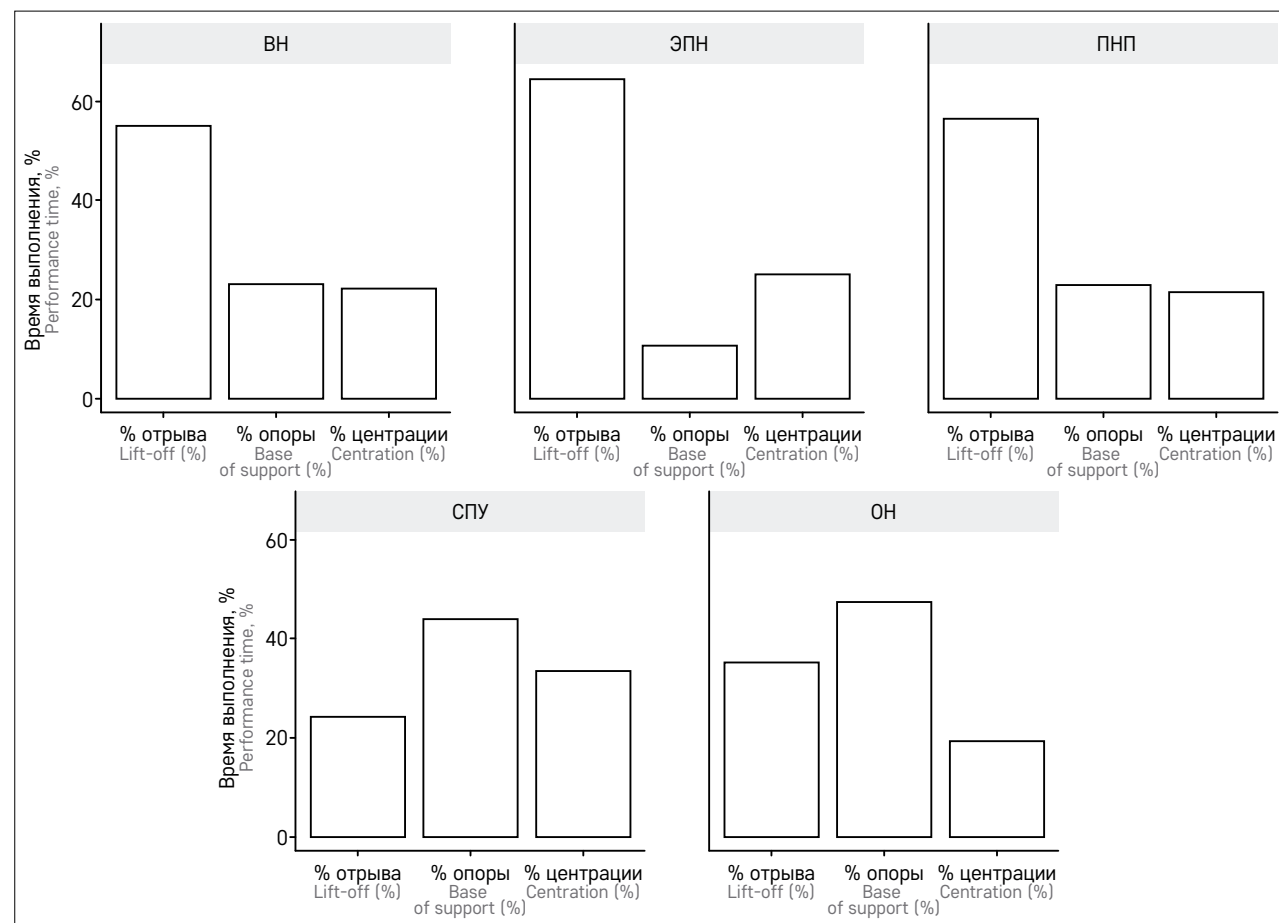
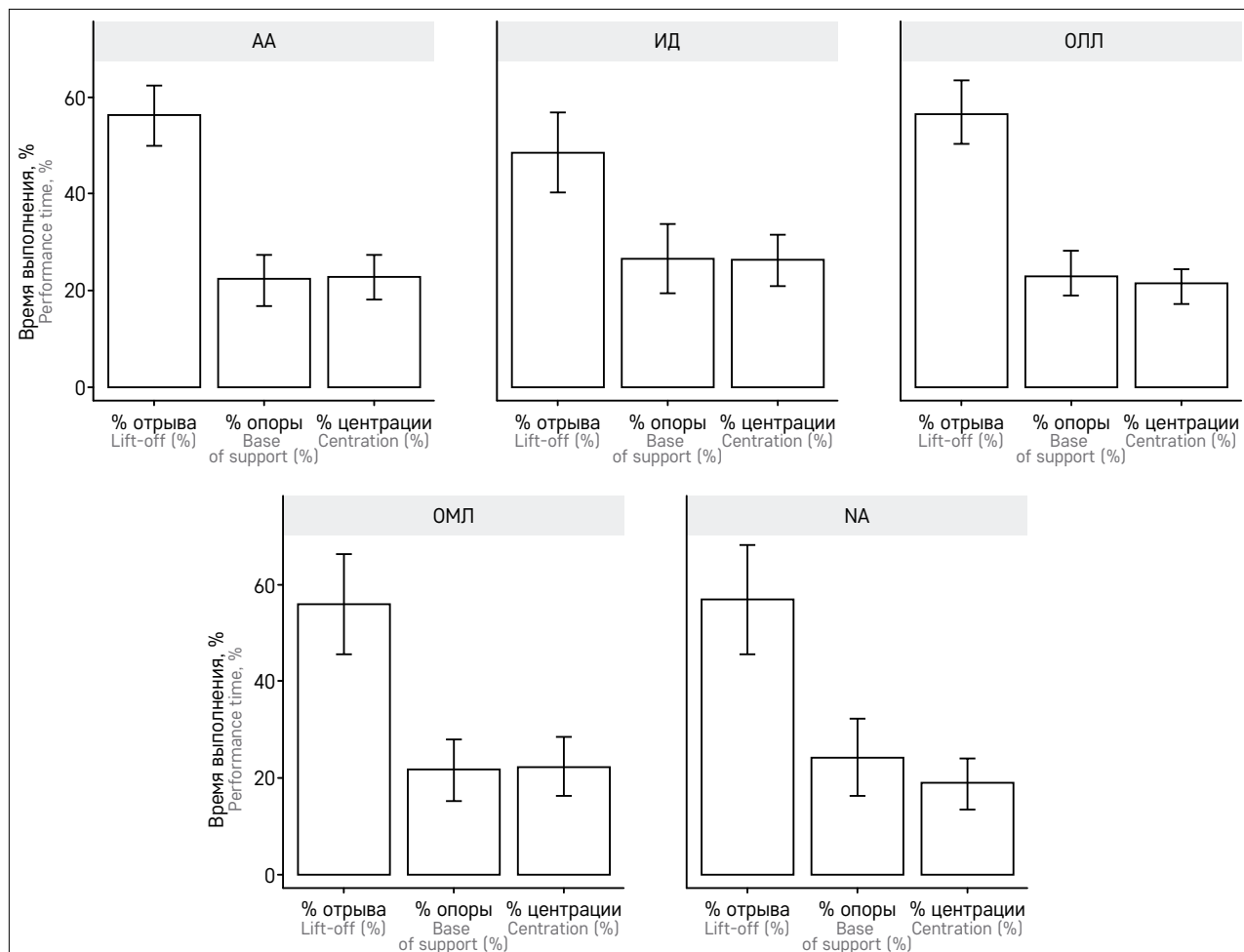


Рисунок 9

Форма столбиковых гистограмм временных характеристик репрезентативных этапов вертикализации в зависимости от основного диагноза. АА – апластическая анемия; ИД – иммунодефицит; НА – диагнозы, встречающиеся по одному (3 пациента после различных видов эндопротезирования)

Figure 9

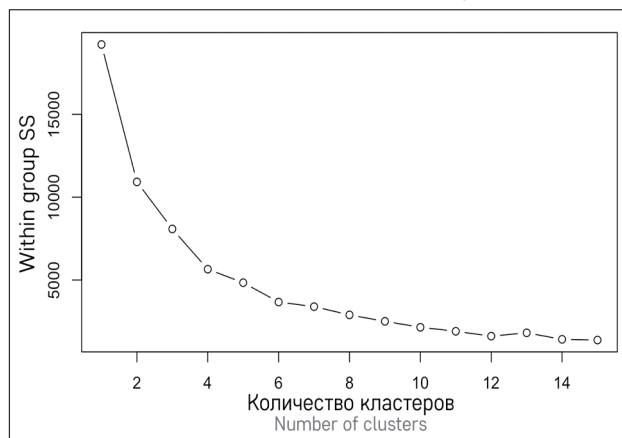
Bar histograms showing time characteristics of representative STS phases depending on the primary diagnosis. AA – aplastic anemia; ID – immunodeficiency; NA – single cases (3 patients after various types of endoprosthesis)

**Рисунок 10**

Кластеры по медиане времени выполнения репрезентативных фаз теста. Интервалы на графиках – это среднее значение ± 2 СКО, внутри него лежат ~ 95% наблюдений этой выборки

Figure 10

Clusters by median time of performance of the representative phases of the test. The intervals in the plots represent the mean value ± 2 standard deviations, within which ~ 95% of the observations of this sample lie



изменений локомоций у больных ОЛЛ, то в выборке большинство пациентов оказались с последствиями терапии именно этого заболевания, однако для сравнения требуются данные по детям с другими патологиями. Так, не удалось из-за несовершенства выборки получить статистически значимые данные по различиям временных показателей репрезентативных этапов локомоторного стереотипа вертикализации в зависимости от основного заболевания и реабилитационного диагноза, поставленного клинически на этапе направления пациента на физическую реабилитацию.

Самые интересные данные позволили получить кластерный анализ, фактически изменивший наш фокус внимания. Три наиболее удобных для клинического осознания кластера показали, что пациенты легко группируются в 3 основные реабилитационные парадигмы (общетерапевтическую, неврологическую и ортопедическую), однако эти кластеры не соответствуют ни разделению по основ-

Рисунок 11

Распределение по наиболее репрезентативным кластерам

Figure 11

Distribution by the most representative clusters

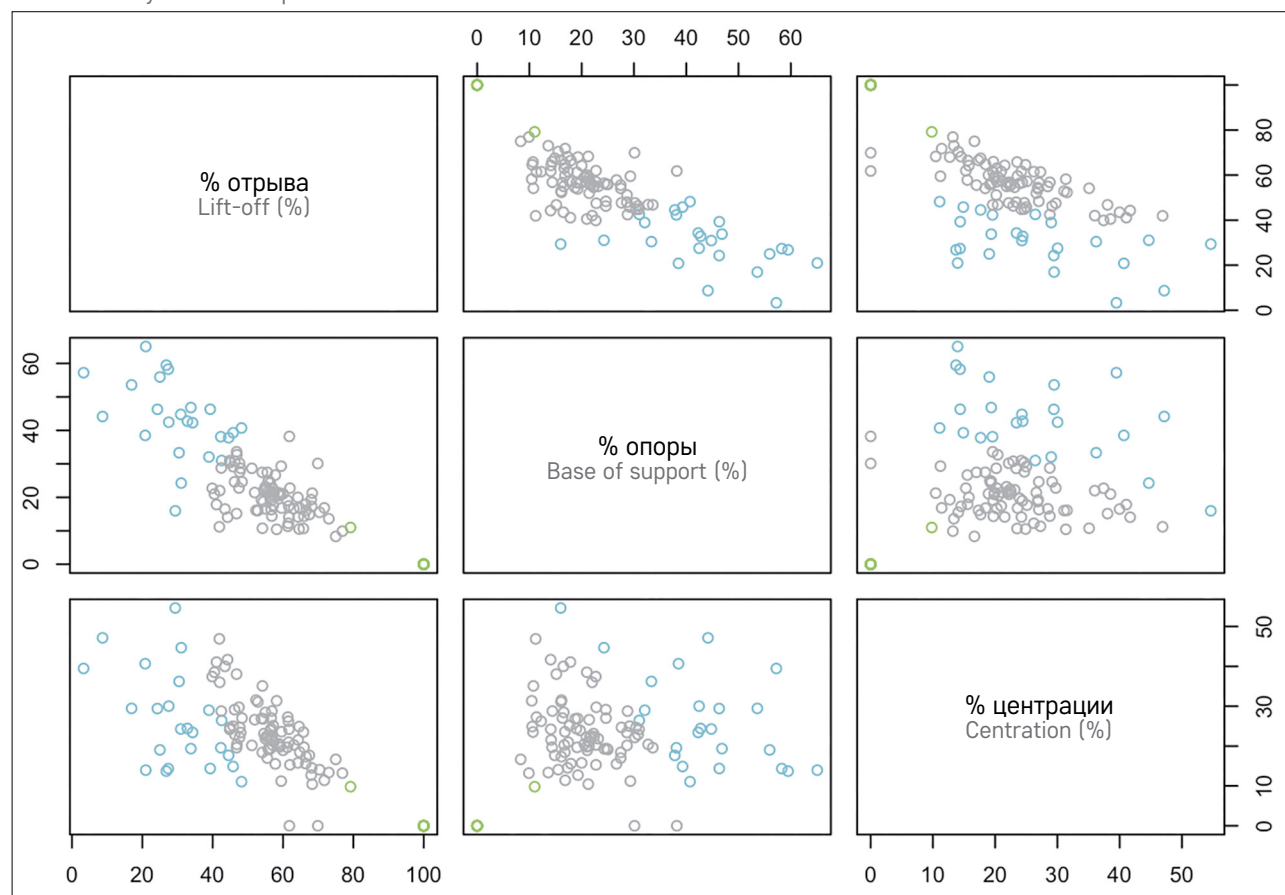
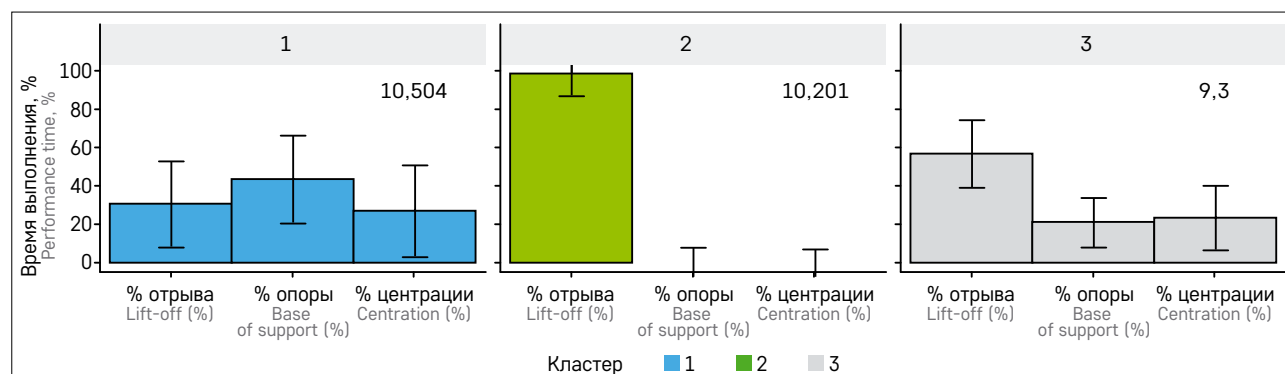


Рисунок 12

Распределение по кластерам в соответствии с базовыми реабилитационными парадигмами. Кластер 1 – пациенты с ведущей клинической картиной поражения ЦНС; кластер 2 – пациенты с ведущей клинической картиной поражения опорно-двигательного аппарата; кластер 3 – пациенты с типичной клинической картиной полинейропатии

Figure 12

Distribution by clusters according to the basic rehabilitation paradigms. Cluster 1: patients with a prevailing clinical presentation of CNS involvement; cluster 2: patients with a prevailing clinical presentation of musculoskeletal system involvement; cluster 3: patients with a typical clinical presentation of polyneuropathy



ному заболеванию, ни причинам направления пациента на реабилитацию. Другими словами, в условно неврологическом кластере были как нейроонкологические пациенты, так и больные ОЛЛ, ОМЛ и с иммунодефицитом, в то время как в условно общетерапевтическом кластере были также пациенты с нейроонкологическим диагнозом и с опухо-

лями костей после эндопротезирования, которые казались на 100% ортопедическими. Мы получили подтверждение известному представлению о том, что в процессе лечения от онкологического заболевания клиническая парадигма пациента может непредсказуемо меняться. Теперь мы думаем, что это не просто изменение парадигмы, а своего рода

«снежный ком» из парадигм. Например, для реабилитолога пациент с ОЛЛ в процессе лечения может из общепедиатрической/-терапевтической парадигмы в какой-то момент перейти в парадигму неврологическую в результате развития нейролейкоза или в результате индивидуальной реакции на химиопрепарат с развитием тяжелой энцефалопатии, а на следующем этапе, скажем, после рецидива и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток этот же больной переключается в ортопедическую парадигму в результате развития остеонекроза или тяжелого остеопороза. Надо понимать, что в этой ситуации происходит не переход из парадигмы в парадигму, а сложное сочетание всех парадигм у одного пациента с клинической доминантой одной из них.

Таким образом, кластерный анализ параметров видеоизображения локомоторного стереотипа вертикализации позволил нам усомниться в том, что двигательные нарушения у пациентов, получающих лечение от ОЛЛ на данном этапе исследований, можно считать специфическими.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования свидетельствуют о том, что клинический анализ видеоизображения рефлексолокомоций «КЛАВИР» дает значительный объем объективных данных при клинической оценке диагностического теста вертикализации у пациентов детского возраста и подростков, получающих лечение ОЛЛ.

Удалось решить все поставленные в исследовании задачи:

1. Выявить и описать ракурс-независимые инвариантные черты видеоизображения теста на вертикализацию.

2. Разработать и применить методику оценки временных характеристик инвариантных черт видеоизображения теста на вертикализацию.

3. Выявить и описать смысловую структуру теста на вертикализацию. В рамках смысловой структуры были описаны наиболее репрезентативные обязательные этапы вертикализации.

4. Выявить и описать типичные визуальные характеристики двигательного состава теста на вертикализацию.

5. Результаты контроля межисследовательской вариабельности позволяют надеяться на возможность автоматизации процесса видеорегистрации временных характеристик инвариантных черт этапов локомоторного стереотипа вертикализации.

Из-за неоднородности выборки, малого спектра вошедших в исследование заболеваний и недостаточного числа наблюдений сделать однозначные выводы о формировании полных критериев диагностики двигательных нарушений у пациентов с ОЛЛ на основе видеоизображения ациклического локомоторного стереотипа вертикализации на данном этапе исследования не представляется возможным. Однако уже на этом этапе ясно, что двигательные нарушения у детей и подростков с ОЛЛ распределены в очень широком спектре и для выделения специфических особенностей необходимо продолжать исследования.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Mitrakov N.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3868-0510>

Shcherbukha A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8168-9588>

Shafran P.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4176-7406>

Voronin K.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7578-9657>

Laysheva O.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8084-1277>

Литература

1. Miller K.D., Siegel R.L., Lin C.C., Mariotto A.B., Kramer J.L., Rowland J.H., et al. Cancer Treatment and Survivorship Statistics, 2016. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 271–89. DOI: 10.3322/caac.21349
2. Robbins S.L., Kumar V., Cotran R.S. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. 8th ed. Philadelphia, Pa: Saunders/Elsevier; 2010.
3. Kenney L.B., Bradeen H., Kadan-Lottick N.S., Diller L., Homans A., Schwartz C.L. The current status of follow-up services for childhood cancer survivors, are we meeting goals and expectations: a report from the Consortium for New England Childhood Cancer Survivors. *Pediatr Blood Cancer* 2011; 57: 1062–6.
4. Quasthoff S., Hartung H.P. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *J Neurol* 2002; 249: 9–17.
5. Huang T.T., Ness K.K. Exercise interventions in children with cancer: a review. *Int J Pediatr* 2011; 2011: 461512.
6. Courneya K.S., Friedenreich C.M. Framework PEACE: an organizational model for examining physical exercise across the cancer experience. *Ann Behav Med* 2001; 23: 263–72.
7. Ness K.K., Kaste S.C., Zhu L., Pui C.-H., Jeha S., Nathan P.C., et al. Skeletal, neuromuscular and fitness impairments among children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2015; 56 (4): 1004–11.
8. Tanner L., Sencer S., Hooke M.C. The Stoplight Program: A Proactive Physical Therapy Intervention for Children With Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Pediatr Oncol Nurs* 2017; 34 (5): 347–57.
9. Simioni C., Zauli G., Martelli A.M., Vitale M., Ultimo S., Milani D. et al. Physical training interventions for children and teenagers affected by acute lymphoblastic leukemia and related treatment impairments. *Oncotarget* 2018; 9 (24): 17199–209.

10. Moyer-Mileur L.J., Ransdell L., Bruggers C.S. Fitness of children with standard-risk acute lymphoblastic leukemia during maintenance therapy: response to a home-based exercise and nutrition program. *J Pediatr Hematol Oncol* 2009; 31: 259–66.
11. Hartman A., te Winkel M.L., van Beek R.D., de Muinck Keizer-Schrama S.M., Kemper H.C., Hop W.C., et al. A randomized trial investigating an exercise program to prevent reduction of bone mineral density and impairment of motor performance during treatment for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 53: 64–71.
12. Hinds P.S., Hockenberry M., Rai S.N., Zhang L., Razzouk B.I., Cremer L., et al. Clinical field testing of an enhanced-activity intervention in hospitalized children with cancer. *J Pain Symptom Manage* 2007; 33: 686–97.
13. Marchese V.G., Chiarello L.A., Lange B.J. Effects of physical therapy intervention for children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2004; 42: 127–33.
14. Soares-Miranda L., Fiuza-Luces C., Las-saletta A., Santana-Sosa E., Padilla J.R., Fernández-Casanova L., et al. Physical Activity in Pediatric Cancer patients with solid tumors (PAPEC): Trial rationale and design. *Contemporary Clinical Trials* 2013; 36: 106–15.
15. Piscione P.J., Bouffet E., Timmons B., Courneya K.S., Tetzlaff D., Schneiderman J.E., et al. Exercise training improves physical function and fitness in long-term paediatric brain tumour survivors treated with cranial irradiation. *Eur J Cancer* 2017; 80: 63–72.
16. Moyer-Mileur L.J., Ransdell L., Bruggers C.S. Fitness of children with standard-risk acute lymphoblastic leukemia during maintenance therapy response to a home-based exercise and nutrition program. *J Pediatr Hematol Oncol* 2009; 31: 259–66.
17. Winter C.C., Müller C., Harges J., Gosheger G., Boos J., Rosenbaum D. The effect of individualized exercise interventions during treatment in pediatric patients with a malignant bone tumor. *Support Care Cancer* 2013; 21: 1629–36.
18. Marchese V.G., Chiarello L.A., Lange B.J. Effects of Physical therapy intervention for children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2004; 42: 127–33.
19. Fiuza-Luces C., Padilla J.R., Soares-Miranda L., Santana-Sosa E., Quiroga J.V., Santos-Lozano A., et al. Exercise intervention in pediatric patients with solid tumors: the physical activity in pediatric cancer trial. *Med Sci Sports Exerc* 2017; 49 (2): 223–30.
20. da Cunha Batalha L.M., Mota A.A.S.C. Massage in children with cancer: effectiveness of a protocol. *J Pediatr (Rio J)* 2013; 89 (6): 595–600.
21. Casanova-García C., Lerma Lara S., Pérez Ruiz M., Ruano Domínguez D., Santana Sosa E. Non-pharmacological treatment for neuropathic pain in children with cancer. *Medical Hypotheses* 2015; 85 (6): 791–7.
22. Speyer E., Herbinet A., Vuillemin A., Briancón S., Chastagner P. Effect of adapted physical activity sessions in the hospital on health-related quality of life for children with cancer: a cross-over randomized trial. *Pediatr Blood Cancer* 2010; 55 (6): 1160–6. DOI: 10.1002/pbc.22698
23. Tanir M.K., Kuguoglu S. Impact of exercise on lower activity levels in children with acute lymphoblastic leukemia: a randomized controlled trial from Turkey. *Rehabil Nurs* 2013; 38 (1): 48–59.
24. Post-White J., Fitzgerald M., Savik K., Hooke M.C., Hannahan A.B., Sencer S.F. Massage therapy for children with cancer. *J Pediatr Oncol Nurs* 2009; 26 (1): 16–28.
25. Diorio C., Schechter T., Lee M., O'Sullivan C., Hesser T., Tomlinson D., et al. A pilot study to evaluate the feasibility of individualized yoga for inpatient children receiving intensive chemotherapy. *BMC Complement Altern Med* 2015; 15: 2.
26. Barlow J.H., Powell L.A., Gilchrist M., Fotiadou M. The effectiveness of the training and support program for parents of children with disabilities: a randomized controlled trial. *J Psychosom Res* 2008; 64: 55–62.
27. Alappattu M.J., Coronado R.A., Lee D., Bour B., George S.Z. Clinical characteristics of patients with cancer referred for outpatient physical therapy. *Phys Ther* 2015; 95 (4): 526–38. DOI: 10.2522/ptj.20140106
28. Huang J.S., Dillon L., Terrones L., Schubert L., Roberts W., Finklestein J., et al. Fit4Life: a weight loss intervention for children who have survived childhood leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2014; 61 (5): 894–900. DOI: 10.1002/pbc.24937
29. Hartman A., te Winkel M.L., van Beek R.D., de Muinck Keizer-Schrama S.M.P.F., Kemper H.C.G., Hop W.C.J., et al. A randomized trial investigating an exercise program to prevent reduction of bone mineral density and impairment of motor performance during treatment for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 53: 64–71.
30. Chamorro-Viña C., Ruiz J.R., Santana-Sosa E., González Vicent M., Madero L., Pérez M., et al. Exercise during hematopoietic stem cell transplant hospitalization in children. *Med Sci Sports Exerc* 2010; 42 (6): 1045–53. DOI: 10.1249/MSS.0b013e3181c4dac1
31. Ruiz J.R., Fleck S.J., Vingren J.L., Ramírez M., Madero L., Fraga M.S., et al. Preliminary findings of a 4-month intrahospital exercise training intervention on IGFs and IGFBPs in children with leukemia. *J Strength Cond Res* 2010; 24 (5): 1292–7. DOI: 10.1519/JSC.0b013e3181b22ac5
32. Bogg T.F.T., Broderick C., Shaw P., Cohn R., Naumann F.L. Feasibility of an inpatient exercise intervention for children undergoing hematopoietic stem cell transplant. *Pediatr Transplant* 2015; 19: 925–31.
33. Kuehl R., Schmidt M.E., Dreger P., Steindorf K., Bohus M., Wiskemann J. Determinants of exercise adherence and contamination in a randomized controlled trial in cancer patients during and after allogeneic HCT. *Support Care Cancer* 2016; 24 (10): 4327–37. DOI: 10.1007/s00520-016-3271-6
34. Hinds P.S., Hockenberry M., Rai S.N., Zhang L., Razzouk B.I., Cremer L., et al. Clinical field testing of an enhanced-activity intervention in hospitalized children with cancer. *J Pain Symptom Manage* 2007; 33 (6): 686–97.
35. Braam K.I., van Dijk E.M., Veening M.A., Bierings M.B., Merks J.H.M., Grootenhuis M.A., et al. Design of the Quality of Life in Motion (QLIM) study: a randomized controlled trial to evaluate the effectiveness and cost-effectiveness of a combined physical exercise and psychosocial training program to improve physical fitness in children with cancer. *BMC Cancer* 2010; 10: 624.
36. Millan N.C., Pastrana A., Gutter M.R., Zubizarreta P.A., Monges M.S., Felice M.S. Acute and sub-acute neurological toxicity in children treated for acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res* 2018; 65: 86–93.
37. Бернштейн Н.А. Физиология движений и активность. Под ред. акад. Газенко О.Г., подготовлено проф. Фейгенберг И.М. М.: «Наука»; 1990. С. 44–106.

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 27.09.2020
Принята к печати 02.02.2021

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-128-135

Клинические наблюдения тиопури- индуцированной миелотоксичности у пациентов с острыми лейкозами и обоснование преимуществ фармакогенетического подхода при назначении 6-меркаптопурина

А.К. Игнатова, И.И. Калинина, Д.А. Евсеев, К.С. Антонова, Г.А. Новичкова, А.А. Масчан

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

Контактная информация:

Игнатова Анна Константиновна,
врач-ординатор ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им.
Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: anna.ignatova@fccho-moscow.ru

Меркаптопурин (МР) – это химиопрепарат, являющийся ключевым элементом поддерживающей терапии при острых лейкозах. В связи с фармакокинетическими различиями у пациентов, получающих одинаковые расчетные дозы препарата, может синтезироваться разное количество активных и токсических метаболитов. Этим обусловлены неодинаковая переносимость препарата и необходимость подбора индивидуальной дозы. Долгое время единственным инструментом для титрования дозы 6-МР являлся уровень лейкоцитов и гранулоцитов периферической крови. По мере изучения генетических факторов, влияющих на метаболизм 6-МР, и развития технологии высокопроизводительного секвенирования появились клинические рекомендации по подбору доз тиопуринов, основанные на фармакогенетическом подходе. В настоящей статье мы описали двух пациентов, принадлежащих к малому этносу России, с аномальным толерированием 6-МР и проанализировали состояние проблемы фармакогенетики тиопуринов с обоснованием преимуществ персонализированного, основанного на фармакогенетике подхода к назначению 6-МР. Родители пациентов дали согласие на использование информации, в том числе фотографий детей, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: дети, острый лейкоз, поддерживающая терапия, 6-меркаптопурин, миелотоксичность, фармакогенетика

Игнатова А.К. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 128–135. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-128-135

Thiopurine-induced myelotoxicity in patients with acute leukemia and benefits of preemptive pharmacogenetic testing prior to 6-mercaptopurine prescription

A.K. Ignatova, I.I. Kalinina, D.A. Evseev, K.S. Antonova, G.A. Novichkova, A.A. Maschan

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

Correspondence:

Anna K. Ignatova, resident, of Dmitry
Rogachev National Medical Research
Center of Pediatric Hematology, Oncology
and Immunology, Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: anna.ignatova@fccho-moscow.ru

Mercaptopurine (MP) is a key element of the maintenance therapy of acute leukemias. Different amounts of active and toxic metabolites can be synthesized in patients who are receiving the same doses of the drug due to pharmacokinetic differences. This contributes to the unequal drug tolerability and the need of dose adjustment. For a long time, the only tool for adjusting 6-MP dose was the level of leukocytes and granulocytes in the peripheral blood. With the understanding of genetic factors affecting the metabolism of 6-MP and development of next-generation sequencing technology, clinical guidelines for thiopurine dosing based on a pharmacogenetic approach have been emerged. In this article, we report two patients belonging to a small ethnic group in Russia with abnormal 6-MP toleration and substantiate the advantages of a personalized, pharmacogenetically-based approach to 6-MP administration. The patient's parents agreed to use the information, including the child's photo, in scientific research and publications.

Key words: children, acute leukemia, maintenance therapy, 6-mercaptopurine, myelotoxicity, pharmacogenetics

Ignatova A.K., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 128–135.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-128-135

Меркаптопурин (МР) – это химиопрепарат из группы тиопуринов, использующийся в терапии ряда онкогематологических заболеваний. Противолейкемическое действие 6-МР известно уже более полувека и первоначально было продемонстрировано на мышиных моделях, а в 1952 г. его эффективность была показана и в терапии острого лейкоза человека [1].

На сегодняшний день 6-МР является ключевым элементом поддерживающей терапии самого частого онкогематологического заболевания детского возраста – острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), а также используется в лечении острых миелоидных лейкозов и сдерживающей терапии ювенильного миеломоноцитарного лейкоза. Терапия 6-МР в максимально толерируемой дозе оказалась критически

важной для предотвращения ранних рецидивов ОЛЛ. Достаточная длительность и отсутствие перерывов в приеме препарата в ряде исследований напрямую коррелировали с бессобытийной выживаемостью (БСВ) детей с ОЛЛ [2–4]. Эффективность 6-МР в поддерживающей терапии острого промиелоцитарного лейкоза (ОПЛ) и влияние на БСВ также были продемонстрированы в нескольких крупных рандомизированных исследованиях [5, 6].

Однако, несмотря на более чем полувековой опыт использования 6-МП и его неоспоримую эффективность, по сей день нерешенным вопросом остается неодинаковая переносимость терапии. В связи с различиями фармакокинетики, обусловленными генетическими полиморфизмами ферментов метаболизма тиопуринов [7], у пациентов, получающих одинаковые расчетные дозы препарата, может синтезироваться разное количество активных и токсических метаболитов. Активные метаболиты 6-МР наряду с оказанием желаемого цитотоксического эффекта в отношении лейкозной популяции закономерно являются первичными медиаторами токсичности терапии, в первую очередь проявляющейся в миелосупрессивном действии [8]. Учитывая то, что препарат обладает узким «терапевтическим окном», даже небольшое превышение терапевтических концентраций может привести к развитию глубокой миелосупрессии, что заставляет прерывать лечение, а в некоторых случаях может стать причиной развития жизнеугрожающих инфекционных процессов.

Таким образом, задачей врача, проводящего длительную терапию 6-МР, является нахождение и поддержание деликатного баланса между субоптимальным противоопухолевым эффектом и миелотоксичностью посредством своевременной коррекции доз. Долгое время единственным инструментом для титрования дозы 6-МР являлся уровень лейкоцитов и гранулоцитов периферической крови. В 2011 г. появились первые клинические рекомендации по подбору доз тиопуринов, основанные на фармакогенетическом подходе [9]. Принцип этого подхода заключается в следующем: в зависимости от наличия мутаций в генах ферментов метаболизма 6-МР определяется фенотип пациента, который отражает скорость инактивации цитотоксических метаболитов. Исходя из фенотипа производится подбор дозы препарата. Давно известным и наиболее изученным в этой связи является ген тиопурин S-метилтрансферазы (*TPMT*), полиморфизмы в котором играют большую роль в вариативности индивидуального ответа на терапию [10]. Некоторые протоколы по лечению ОПЛ у детей, например NOPHO ALL2008, использующийся в скандинавских и прибалтийских странах, адаптировали данный подход и внедрили его в клиническую практику, благодаря чему удается избежать развития

миелосупрессии у «промежуточных» и «медленных» метаболитов по *TPMT*, сократить число госпитализаций, связанных с токсичностью терапии, а также избежать длительных перерывов в поддерживающей терапии. Однако вскоре стало понятно, что полиморфизмами *TPMT* невозможно объяснить все случаи токсичности, и поиск мутаций, нарушающих метаболизм 6-МР, продолжался.

В настоящей статье мы описали двух пациентов, принадлежащих к малому этносу России, с аномальным толерированием 6-МП и проанализировали состояние проблемы фармакогенетики тиопуринов с обоснованием преимущества персонализированного подхода к назначению 6-МР, основанного на фармакогенетике.

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

Механизм действия и метаболизм тиопуринов

Основные препараты из группы тиопуринов, использующиеся в клинической практике с цитостатической и иммуносупрессивной целями, – тиогуанин, 6-МР и его пролекарство – азатиоприн. Их общий метаболический путь заключается в нескольких последовательных реакциях: азатиоприн превращается в 6-МР, из которого через ряд промежуточных метаболитов образуются тиогуаниновые нуклеотиды (6-ТГН): 6-тиогуанин-монофосфат (6-ТГМ) и в результате дальнейшего фосфорилирования – 6-тиогуанин-дифосфат (6-ТГД) и тиогуанин-трифосфат (6-ТГТ) (рисунки 1) [11]. 6-ТГТ представляют собой активные формы 6-МР. Они встраиваются в клеточную ДНК, терминируют удлинение цепи и ингибируют механизмы репарации, как следствие, приводя к клеточной гибели посредством апоптоза [12].

Ключевые ферменты, участвующие в сложном метаболическом пути 6-МР, и упрощенная схема метаболизма представлены на рисунке 1.

Фармакогенетика метаболизма тиопуринов

Генетически детерминированные особенности внутриклеточного метаболизма могут изменять баланс между неэффективностью и токсичностью терапии. На сегодняшний день только для двух генов метаболизма 6-МР определены полиморфизмы, достоверно связанные с повышением риска миелотоксичности.

TPMT

TPMT является наиболее изученным ферментом метаболизма 6-МР. Он катализирует реакцию метилирования, посредством которой образуются неактивные метаболиты, при этом остается меньше

Рисунок 1

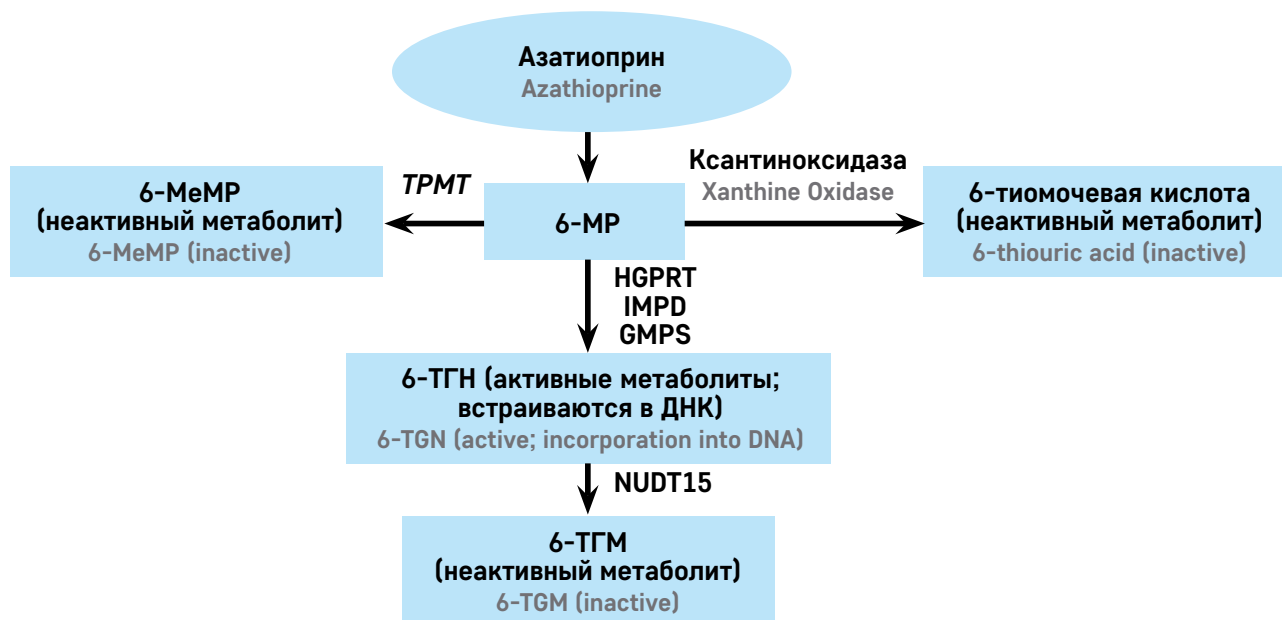
Метаболизм тиопуринов (адаптировано из [13])

HGPRT – гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза; IMPD – инозин-5'-монофосфатдегидрогеназа; GMPS – гуанозин-5'-монофосфатсинтетаза; NUDT15 – 7,8-дигидро-8-оксогуанин-трифосфатаза; MeMP – метилмеркаптопурин

Figure 1

Thiopurine Metabolism (Adapted from [13])

TPMT – thiopurine-S-methyltransferase; HGPRT – hypoxanthine-guanine-phosphoribosyl-transferase; IMPD – inosine monophosphate dehydrogenase; GMPS – guanosine monophosphate synthetase; NUDT15 – nucleoside diphosphate-linked to another moiety X hydrolase 15; MeMP – methylmercaptapurine; MP – mercaptopurine; TGN – thioguanine nucleotides; TGM – thioguanine monophosphates



субстрата для образования метаболически активных фосфорилированных тиопуринов.

Ряд однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) ассоциированы с потерей активности фермента. Известно около 25 вариантных аллелей гена *TPMT* (*2, *3A, *3B, *3C, *3D, *4–*15 и др.), при этом всего 3 из них (*2 [rs1800462], *3A [rs1800460 и rs1142345] и *3C [rs1142345]) обуславливают до 95% случаев средней и низкой активности фермента [14, 15]. Варианты нуклеотидных последовательностей, кодирующие фермент со сниженной или отсутствующей активностью, ассоциированы с более высокой концентрацией активных метаболитов 6-ТГН, что обуславливает повышенный риск развития токсических эффектов.

По данным литературы, существуют некоторые различия в распределении частот вариантных аллелей гена *TPMT* в различных этнических группах. В европейской популяции около 89% пациентов являются носителями аллелей «дикого» типа (*TPMT**1 и *1S) и имеют нормальную активность фермента. Носители двух аллелей *TPMT* со сниженной функцией (гомозиготы или компаунд-гетерозиготы) составляют менее 1% в популяции. Они являются «медленными» метаболиторами и предрасположены к более высоким уровням 6-ТГН в крови и, как следствие, к развитию миелотоксичности при приеме тиопуринов в стандартных дозах, поэтому нуждаются в коррекции доз до начала лечения [16]. Около 10% имеют один

мутантный аллель в гене *TPMT* (гетерозиготы) и являются «промежуточными» метаболиторами. Нежелательные явления у них встречаются в 30–60% случаев [17].

Распространенность генетических вариаций *TPMT* на территории Российской Федерации была изучена проф. Е.В. Самочатовой и соавт. в начале 2000-х годов. Встречаемость вариантных аллелей в когорте из 995 человек составила 5,5%. Наиболее распространенным вариантным аллелем в российской популяции оказался *TPMT**3A [18].

Суммируя все накопленные данные, консорциум по внедрению клинической фармакогенетики (СПК) в 2011 г. опубликовал рекомендации по генотипированию *TPMT* и подбору дозировки тиопуринов в зависимости от соответствующего фенотипа [9].

NUDT15

После появления такого направления генетических исследований, как полногеномный поиск ассоциаций (GWAS), и начала применения его в фармакогенетике для поиска аллелей, связанных с метаболизмом лекарственных препаратов и их побочными эффектами, был идентифицирован еще один ген, влияющий на переносимость тиопуринов, – *NUDT15* [19]. Ген кодирует фермент 7,8-дигидро-8-оксогуанин-трифосфатазу, отвечающий за превращение активного метаболита 6-ТГН в неактивный 6-ТГМ (рисунок 1). Дефект функциональной

активности этого фермента приводит к накоплению активных метаболитов, способных встраиваться в ДНК, и, как следствие, к повышению риска развития миелосупрессии на фоне терапии 6-MP.

В то время как врожденные мутации в гене *TPMT* являются наиболее частой причиной развития токсичности тиопуринов в европейской и африканской популяциях, большинство случаев миелосупрессии среди азиатов и латиноамериканцев может быть объяснено наличием вариантных аллелей *NUDT15* [19, 20]. Около 2% выходцев из Восточной Азии (китайцы, японцы, вьетнамцы) имеют два "loss-of-function" мутантных аллеля в гене *NUDT15* и у 21% присутствует один аллель с инактивирующей мутацией [21]. Поэтому генотипирование *NUDT15* среди пациентов азиатского происхождения представляется особенно важным [19].

rs116855232 (p.Arg139Cys; p.R139C) – первый SNP гена *NUDT15*, для которого была доказана связь с развитием тиопурино-индуцированной ранней лейкопении, присутствует в аллелях *2 и *3. Эта несинонимичная нуклеотидная замена приводит к почти полной потере ферментативной активности и стабильности белка *NUDT15* [20]. В крупном исследовании на корейской популяции чувствительность полиморфизма p.R139C в качестве предиктора развития лейкопении составила 89,4%, а специфичность – 93,2% [22]. В другом исследовании среди детей с ОЛЛ пациенты-гомозиготы по полиморфизму p.R139C толерировали лишь 8% стандартной дозы 6-MP, тогда как для детей, гетерозиготных по этому SNP, и пациентов с аллелями «дикого» типа переносимая доза достигала 63% и 83,5% соответственно [19].

Связь варианта p.R139C с токсичностью тиопуринов в последние несколько лет интенсивно изучалась, и собранной доказательной базы оказалось достаточно для внедрения практических выводов в клиническую практику. Имеются сообщения о более редких аллельных вариантах (*4 – *9), которые приводят к снижению активности *NUDT15 in vitro*, однако убедительные клинические данные об их связи с токсичностью терапии тиопуринами на настоящий момент отсутствуют.

Рекомендации по фармакогенетическому тестированию

В 2018 г. CPIC выпустил обновленные рекомендации по подбору доз тиопуринов, основанные на определении генотипов *TPMT* и *NUDT15* [23].

В зависимости от выявленного генотипа предсказывается функциональный уровень белка-фермента и принимается решение о том, нуждается ли пациент в снижении стартовой дозы препарата. Так как дозы тиопуринов, применяющиеся в терапии злокаче-

ственных и незлокачественных заболеваний, сильно различаются, это решение зависит еще и от клинических показаний.

Согласно стандартам лечения острых лейкозов терапия 6-MP должна проводиться в максимально переносимых дозировках. Стандартными стартовыми являются дозы 50–75 мг/м², именно с них должна начинаться терапия у пациентов – «нормальных» метаболизаторов по *TPMT*. Стартовая терапия дозами ниже стандартных должна рассматриваться для «промежуточных» метаболизаторов по *TPMT*, а для пациентов – «медленных» метаболизаторов необходимо 10-кратное уменьшение стартовой дозы или при невозможности подбора дозы – выбор альтернативного препарата. Степень ожидаемой токсичности 6-MP сопоставима для носителей инактивирующих аллелей генов *TPMT* и *NUDT15* [19]. Поэтому рекомендации по подбору дозы для «промежуточных» и «медленных» метаболизаторов по *NUDT15* аналогичны таковым для *TPMT*.

При этом подчеркивается, что данные рекомендации касаются лишь стартовых доз. В дальнейшем должны проводиться тщательный мониторинг побочных эффектов и коррекция доз в зависимости от степени миелосупрессии, что особенно актуально для гетерозигот по вариантным аллелям, так как переносимость 6-MP среди представителей этой группы может значительно варьировать.

Такой подход позволяет снизить риск острой токсичности, не оказывая отрицательного влияния на эффективность терапии и не увеличивая риск рецидивов. В связи с этим генотипирование *TPMT* и *NUDT15* перед началом приема препарата представляется относительно простым, но чрезвычайно полезным мероприятием и может быть рекомендовано всем пациентам, кому показана терапия тиопуринами.

Ниже мы представляем клинические случаи двух пациентов с ОЛЛ, проходивших лечение в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва). Сходные клинические ситуации позволят максимально объективно сравнить преимущества и недостатки различных подходов к назначению и мониторингу терапии 6-MP.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ №1

Пациент Х., 10 лет, этнический тувинец, находился на лечении в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева с ОЛЛ, t(15;17), низкого инициального риска. Специфическая терапия полностью транс-ретиновой кислотой (ATRA), даунорубицином и цитозин-арабинозидом была начата 16.05.2019. По данным обследования после курса индукции у ребенка была диагностирована клиничко-гематологическая и цитогенетическая ремиссия. После курса консолидации

(AraC + даунорубин в режиме «7 + 3») и интенсификации (ATRA + высокие дозы AraC + даунорубин в режиме «4 + 3») констатирована молекулярная ремиссия. Пациент был выписан 21.10.2019 для продолжения поддерживающей терапии по месту жительства (6-МР 50 мг/м² внутрь ежедневно, метотрексат 20 мг/м² внутрь 1 раз в неделю); прием 6-МР был начат со 100% расчетной дозы.

В ноябре 2019 г. появились жалобы на фебрильную лихорадку, в связи с чем мальчик был госпитализирован в больницу по месту жительства, где получал антибактериальную терапию. С этого же времени по данным гемограммы отмечалось постепенное снижение нейтрофилов до $0,3 \times 10^9/\text{л}$, гемоглобина до 46 г/л, тромбоцитов до $36 \times 10^9/\text{л}$, проводилась массивная заместительная терапия компонентами крови, стимуляция гранулоцитопоза гранулоцитарными колониестимулирующими факторами (Г-КСФ) без эффекта. Пациент был повторно госпитализирован в НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева 24.12.2019 с подозрением на рецидив основного заболевания.

В соматическом статусе при поступлении обращали на себя внимание фебрильная лихорадка, выраженный интоксикационный синдром, мукозит

с множественными эрозивными дефектами слизистой оболочки полости рта, выраженным болевым синдромом, потребовавшим обезболивания наркотическими анальгетиками.

По результатам проведенного комплексного обследования, включавшего морфологическое, вирусологическое, цитогенетическое, молекулярно-генетическое исследования, а также иммунофенотипирование костного мозга, было подтверждено сохранение клинко-гематологической и молекулярной ремиссии ОПЛ, исключено вирусное поражение костного мозга. Было высказано предположение о том, что развитие цитопении на этапе поддерживающей терапии является проявлением миелотоксичности специфической терапии 6-МР. Это подтверждалось тем, что после отмены специфической терапии отмечалось постепенное восстановление лейкоцитарного роста на фоне стимуляции Г-КСФ (рисунк 2), самопроизвольное восстановление тромбоцитарного роста. Однако секвенирование гена *TPMT* выявило аллели «дикого» типа.

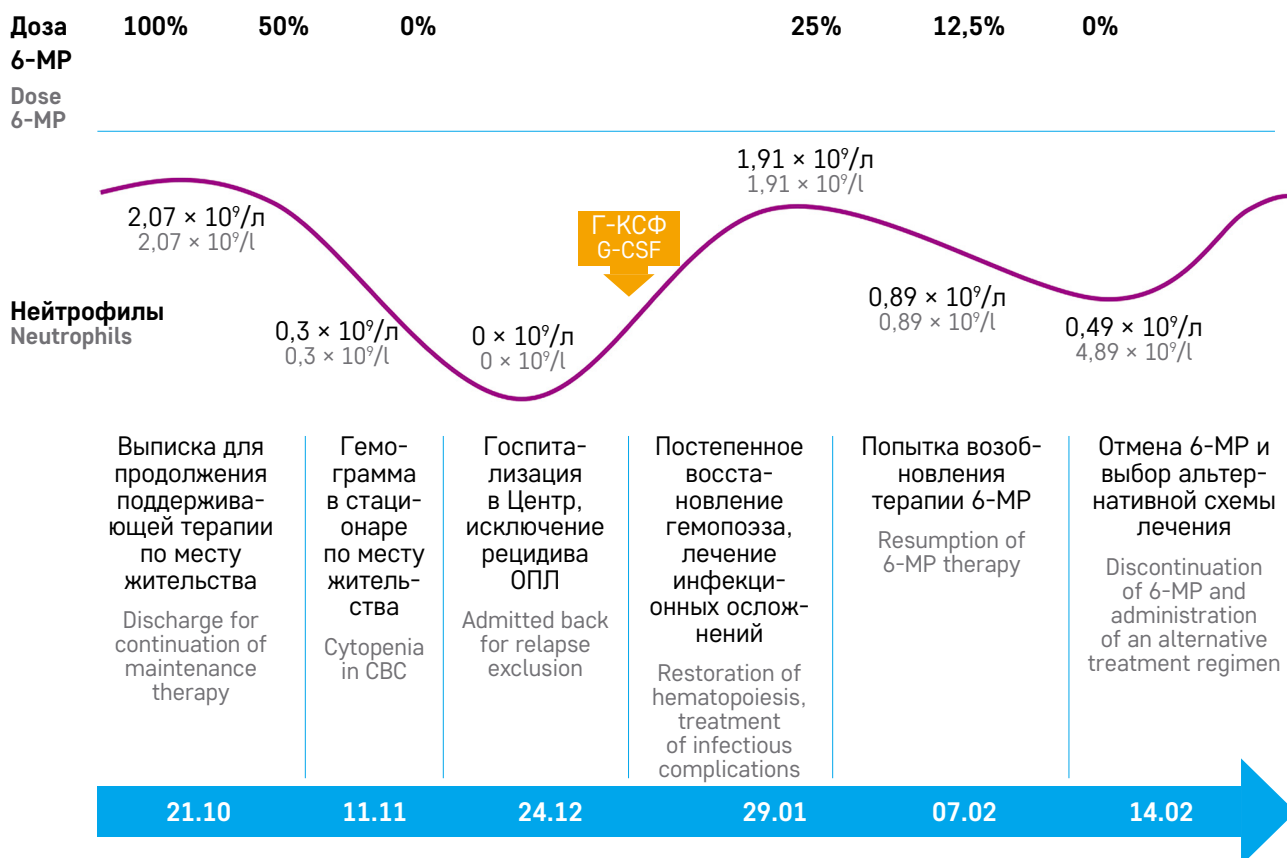
После восстановления показателей гемограммы (лейкоциты $2,31 \times 10^9/\text{л}$, нейтрофилы $1,91 \times 10^9/\text{л}$, гемоглобин 115 г/л, тромбоциты $158 \times 10^9/\text{л}$) был возобновлен прием 6-МР в монорежиме в 25% дозе

Рисунок 2

Динамика изменения уровня нейтрофилов и соответствующая доза 6-МР (% от стандартной дозы – 50 мг/м²/сут)

Figure 2

Dynamic of complete neutrophil count changes and corresponding 6-MP dose (% of the standard dose – 50 mg/m²/day)



(12,5 мг/м²/сут), после чего вновь была отмечена тенденция к снижению показателей (лейкоциты $1,54 \times 10^9$ /л, нейтрофилы $0,89 \times 10^9$ /л, гемоглобин 10^9 г/л, тромбоциты 62×10^9 /л). Несмотря на дальнейшее снижение дозы до 12,5% (12,5 мг/м² через день), отмечалось нарастание цитопении (рисунки 2), в связи с чем прием 6-МР был прекращен полностью.

Учитывая важность поддерживающей терапии для пациентов с ОПЛ и индивидуальную непереносимость 6-МР, было принято решение о проведении курсов терапии триоксидом мышьяка и ATRA 1 раз в 3 мес.

После изучения литературы в целях выявления причины непереносимости 6-МР мы провели исследование на наличие мутаций в гене *NUDT15*. Наш пациент оказался гетерозиготой по полиморфизму p.R139C (rs116855232), т. е. является «промежуточным» метаболитом по *NUDT15*.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ №2

Пациент Ч., 12 лет, получал лечение в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в 2020 г. по поводу ОПЛ. Как и первый пациент, он является этническим тувинцем.

Заболевание дебютировало остро, с фарингита, геморрагического синдрома; бригадой скорой медицинской помощи был доставлен в больницу г. Кызыла, где по результатам проведенного обследования был установлен диагноз: ОПЛ, t(15;17), группа низкого инициального риска.

Для начала специфической терапии был госпитализирован в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, где 13.03.2020–27.07.2020 была проведена интенсивная фаза лечения по протоколу ОПЛ-2008. По завершении интенсификации была констатирована клиничко-гематологическая, цитогенетическая и молекулярная ремиссия.

Учитывая наш опыт выявления пониженной толерантности к тиопуринам у пациента из Республики Тыва, перед началом поддерживающей терапии в данном случае мы провели фармакогенетическое тестирование на наличие мутаций в генах метаболизма 6-МР. Как и в первом клиническом наблюдении мутаций в гене *TPMT* обнаружено не было, однако в *NUDT15* был выявлен полиморфизм rs116855232 в гетерозиготной форме (C/T). Принимая во внимание повышенный риск развития миелотоксичности, терапию 6-МР мы начали с 20% дозы (10 мг/м²/сут). Перед началом поддерживающей терапии уровень лейкоцитов у пациента составлял $5,6 \times 10^9$ /л (нейтрофилы $3,7 \times 10^9$ /л), на 4-е сутки приема 6-МР – $1,79 \times 10^9$ /л (нейтрофилы $0,56 \times 10^9$ /л), уровень тромбоцитов оставался неизменен. Прием препарата был приостановлен, в дальнейшем предпринимались попытки титрования дозы, однако нейтропения сохранялась, и 6-МР был отменен полностью. Было

принято решение о проведении курсов монотерапии ATRA кратностью 1 раз в 2 мес. Пациент был выписан 19.08.2020 для продолжения поддерживающей терапии по месту жительства.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Приведенные клинические примеры иллюстрируют случаи непереносимости 6-МР и затрагивают как вопросы безопасности терапии, так и фармакоэкономические аспекты назначения данного препарата.

В первом случае пациент с ОПЛ развил аплазию кроветворения на этапе поддерживающей терапии, будучи выписанным по месту жительства. Несмотря на высокие риски жизнеугрожающих инфекционных осложнений, связанных с длительным агранулоцитозом, серьезных инфекций в данном случае удалось избежать. Однако прояснение и разрешение ситуации потребовало смены трех медицинских организаций, проведения дорогостоящих исследований, направленных на исключение рецидива заболевания, обеспечения длительной противoinфекционной и заместительной терапии компонентами крови и других расходов, которые суммарно, безусловно, превышают стоимость полноценного фармакогенетического тестирования перед назначением терапии.

Реалии онкогематологической помощи детям в современной России таковы, что лечебное учреждение, в котором проводится интенсивная специфическая терапия, как правило, находится на значительном удалении от места жительства пациента. Условия в местных лечебных учреждениях, где осуществляется контроль за проведением поддерживающей терапии, могут значительно отличаться от таковых в федеральных центрах. В связи с этим при подборе дозы 6-МР важно идти на опережение и использовать инструменты, обладающие предиктивным значением в отношении токсичности.

В условиях, когда фармакогенетическое тестирование не является общепринятым стандартом обследования пациентов с острыми лейкозами, полезно знать о наличии такой опции и использовать ее при сомнениях в переносимости терапии. В частности, происхождение пациента может натолкнуть на мысль о нарушении толерантности к тиопуринам. Исследований, посвященных оценке распространенности полиморфизмов гена *NUDT15* среди населения Российской Федерации различной этнической принадлежности, не проводилось. Исходя из изученной нами литературы, мы впервые описываем случаи непереносимости 6-МР вследствие мутации в гене *NUDT15* у пациентов из Республики Тыва. Учитывая географию полиморфизма rs116855232, а также относительно однородную

этническую среду и слабую распространенность межнациональных браков в Республике Тыва, можно предположить, что встречаемость этой мутации среди тувинцев очень высока. Вероятно, именно для этой категории пациентов применение генетического тестирования перед назначением тиопуринов будет наиболее целесообразно и экономически выгодно. Однако необходимы популяционные исследования для оценки актуальности фармакогенетического подхода у различных групп пациентов.

При попытке подбора терапии нашим пациентам – «промежуточным» метаболитам по *NUDT15*, нами была отмечена еще одна особенность: редукции дозы 6-MP, предусмотренной клиническими рекомендациями [23], оказалось недостаточно для поддержания лейкоцитов на целевом уровне ($2-3 \times 10^9/\text{л}$). Более того, обоим пациентам потребовалась полная отмена 6-MP и смена схемы лечения на альтернативную. К счастью, это были пациенты с ОПЛ, для которых альтернатива поддерживающей терапии 6-MP реально существует. Ситуация с больными ОПЛ является гораздо более сложной.

В литературе описана неоднородность группы «промежуточных» метаболитов в отношении толерируемых доз тиопуринов. Вероятнее всего, такая гетерогенность обусловлена существованием других мутаций в генах метаболизма 6-MP, обладающих синергетическим эффектом с поломками в *TPMT* и *NUDT15* [24]. Принимая во внимание наш опыт, мы рекомендуем редуцировать стартовую дозу 6-MP для гетерозигот по полиморфизму rs116855232 в гене *NUDT15* как минимум в 10 раз, а затем титровать ее по количеству лейкоцитов периферической крови, как это предусмотрено в соответствующем протоколе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе межиндивидуальных различий в эффектах химиопрепаратов, необходимо для персонализации лечения, улучшения результатов терапии острых лейкозов и снижения ее токсичности.

Безусловно, процесс метаболизма является комплексным, и оценить вклад каждого из ферментов

в уровни концентраций активных метаболитов, а тем более в эффективность и токсичность терапии, – задача не из легких. Однако, несмотря на это, за последнее 10-летие мы значительно продвинулись в понимании причин различий в эффективности и переносимости 6-MP, результатом чего стали практические рекомендации по индивидуальному подбору доз в зависимости от генотипов ферментов метаболизма – *TPMT* и *NUDT15*. Очевидно, что не все случаи токсичности исчерпываются мутациями в этих двух генах и необходим дальнейший поиск и определение роли других мутаций. Однако уже на сегодняшний день использование данного подхода может помочь избежать развития выраженной миелосупрессии, а вместе с этим – не допустить инфекционных осложнений, снизить расходы на ненужные госпитализации и косвенно повысить эффективность терапии благодаря ликвидации перерывов в приеме 6-MP у ряда пациентов.

Персонализация химиотерапии является одним из приоритетных направлений развития онкогематологии. Изучение фармакогенетики все большего количества препаратов и создание панелей генов, определение мутаций в которых до начала терапии сможет помочь лечащему врачу в определении индивидуальных доз и повысить настороженность в отношении нежелательных явлений, в будущем сможет изменить подход к лечению онкогематологических заболеваний. В результате возможным станет достижение максимальной эффективности лечения при минимизации системной токсичности.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Ignatova A.K. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2968-4499>

Kalinina I.I. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0813-5626>

Evseev D.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8610-0624>

Antonova K.S. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6603-5749>

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

Maschan A.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0016-6698>

Литература

- Burchenal J.H. Therapy of acute leukemia. *Dia Med* 1952; 24 (72): 1883–4.
- Dibenedetto S.P., Guardabasso V., Ragusa R., Cataldo A.D., Miraglia V., D'Amico S., et al. 6-Mercaptopurine cumulative dose: A critical factor of maintenance therapy in average risk childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Hematol Oncol* 1994; 11: 251–8.
- Relling M.V., Hancock M.L., Boyett J.M., Pui C.H., Evans W.E. Prognostic importance of 6-mercaptopurine dose intensity in acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1999; 93: 2817–28.
- Pui C.H., Evans W.E. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2006; 354: 166–78.
- Fenaux P., Chastang C., Chevret S., Sanz M., Dombret H., Archimbaud E., et al. A randomized comparison of all-trans-retinoic acid (ATRA) followed by chemotherapy and ATRA plus chemotherapy and the role of maintenance therapy in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. The European APL Group. *Blood* 1999; 94 (4): 1192–200.
- Tallman M.S., Andersen J.W., Schiffer C.A., Appelbaum F.R., Feusner J.H., Woods W.G., et al. All-trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemia: Long-term outcome and prognostic factor analysis from the North American Intergroup protocol. *Blood* 2002; 100 (13): 4298–302.
- Lafolie P., Hayder S., Björk O., Ahström L., Liliemark J., Peterson C. Large interindividual variations in the pharmacokinetics of oral 6-mercaptopurine in maintenance therapy of children with acute leukaemia and non-Hodgkin lymphoma. *Acta Paediatr Scand* 1986; 75: 797–803.
- de Beaumais T.A., Fakhoury M., Medard Y., Azougagh S., Zhang D., Yakouben K., et al. Determinants of mercaptopurine toxicity in paediatric acute lymphoblastic leukemia maintenance therapy. *Br J Clin Pharmacol* 2011; 71 (4): 575–84.
- Relling M.V., Gardner E.E., Sandborn W.J., Schmiegelow K., Pui C.-H., Yee S.W., et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for thiopurine methyltransferase genotype and thiopurine dosing. *Clin Pharmacol Ther* 2011; 89 (3): 387–91.
- McLeod H.L., Krynetski E.Y., Relling M.V., Evans W.E. Genetic polymorphism of thiopurine methyltransferase and its clinical relevance for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2000; 14 (4): 567–72.
- Bostrom B., Erdmann G. Cellular pharmacology of 6-mercaptopurine in acute lymphoblastic leukemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1993; 15 (1): 80–6.
- Bökkerink J.P., Stet E.H., de Abreu R.A., Damen F.J., Hulscher T.W., Bakker M.A., et al. 6-Mercaptopurine: Cytotoxicity and biochemical pharmacology in human malignant T-lymphoblasts. *Biochem Pharmacol* 1993; 45 (7): 1455–63.
- McLeod H.L., Siva C. The thiopurine S-methyltransferase gene locus – implications for clinical pharmacogenomics. *Pharmacogenomics* 2002; 3 (1): 89–98.
- Schaeffeler E., Fischer C., Brockmeier D., Wernet D., Moerike K., Eichelbaum M., et al. Comprehensive analysis of thiopurine S-methyltransferase phenotype-genotype correlation in a large population of German-Caucasians and identification of novel TPMT variants. *Pharmacogenetics* 2004; 14: 407–17.
- Yates C.R., Krynetski E.Y., Loennechen T., Fessing M.Y., Tai H.L., Pui C.H., et al. Molecular diagnosis of thiopurine S-methyltransferase deficiency: genetic basis for azathioprine and mercaptopurine intolerance. *Ann Intern Med* 1997; 126: 608–14.
- Evans W.E., Hon Y.Y., Bomgaars L., Coutre S., Holdsworth M., Janco R., et al. Preponderance of thiopurine S-methyltransferase deficiency and heterozygosity among patients intolerant to mercaptopurine or azathioprine. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2293–301.
- Higgs J.E., Payne K., Roberts C., Newman W.G. Are patients with intermediate TPMT activity at increased risk of myelosuppression when taking thiopurine medications? *Pharmacogenomics* 2010; 11: 177–88.
- Samochatova E.V., Chupova N.V., Rudneva A., Makarova O., Nasedkina T.V., Fedorova O.E., et al. TPMT genetic variations in populations of the Russian Federation. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 52 (2): 203–8.
- Yang J.J., Landier W., Yang W., Liu C., Hageman L., Cheng C., et al. Inherited NUDT15 variant is a genetic determinant of mercaptopurine intolerance in children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2015; 33: 1235–42.
- Moriyama T., Nishii R., Perez-Andreu V., Yang W., Klussmann F.A., Zhao X., et al. NUDT15 polymorphisms alter thiopurine metabolism and hematopoietic toxicity. *Nat Genet* 2016; 48: 367–73.
- Доступно по: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/205919s004lbl.pdf. Ссылка активна на 09.03.2021.
- Yang S.K., Hong M., Baek J., Choi H., Zhao W., Jung Y., et al. A common missense variant in NUDT15 confers susceptibility to thiopurine-induced leukopenia. *Nat Genet* 2014; 46 (9): 1017–20.
- Relling M.V., Schwab M., Whirl-Carrillo M., Suarez-Kurtz G., Pui C.H., Stein C.M., et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for Thiopurine Dosing Based on TPMT and NUDT15 Genotypes: 2018 Update. *Clin Pharmacol Ther* 2019; 105 (5): 1095–105.
- Choi R., Sohn I., Kim M.J., Woo H.I., Lee J.W., Ma Y., et al. Pathway genes and metabolites in thiopurine therapy in Korean children with acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Clin Pharmacol* 2019; 85 (7): 1585–97.

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 15.09.2020
Принята к печати 02.02.2021

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-136-144

Атипичное течение бартонеллеза с гепатолиенальным поражением

М.А. Луныкова, В.Г. Демихов, Н.В. Инякова, Е.А. Панина

Научно-клинический центр гематологии, онкологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань

Возбудителем болезни кошачьей царапины является грамотрицательная внутриклеточная бактерия *Bartonella henselae* (*B. henselae*). Заражение человека происходит преимущественно через царапины и укусы кошек. В типичных случаях клиническая картина представлена первичным аффектом на коже и регионарным лимфаденитом. Атипичная форма инфекции может протекать с лихорадкой, абдоминальными, глазными и неврологическими проявлениями. Характерной особенностью при абдоминальной форме является наличие солитарных или множественных, разных по размеру и форме, гипо-/анэхогенных очагов в печени и селезенке. Инфекция *B. henselae* является одной из наиболее часто имитирующих злокачественную лимфому, когда происходит вовлечение селезенки в сочетании с В-симптомами (потеря веса, ночные проливные поты и длительная лихорадка). Недавний контакт с кошками в анамнезе и диагностические титры IgG к *B. henselae* указывают на инфекцию. Не существует единого мнения о выборе antimicrobial препарата и продолжительности терапии при системных формах. В статье представлен собственный опыт диагностики и лечения таких пациентов. Родители пациентов дали согласие на использование информации, в том числе фото детей, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: бартонеллез, гепатолиенальное поражение, ан-/гипоэхогенные очаговые поражения селезенки

Луныкова М.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 136–144. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-136-144

Atypical presentation of bartonellosis with hepatolienal lesions

M.A. Lunyakova, V.G. Demikhov, N.V. Inyakova, E.A. Panina

Research center for hematology, oncology and immunology of Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ryazan

Cat scratch disease is caused by the gram-negative intracellular bacterium *Bartonella henselae* (*B. henselae*). Human infection occurs mainly through cat scratches and bites. In typical cases, the clinical course is presented by a primary affect on the skin and regional lymphadenitis. The atypical presentation of infection can occur with fever, abdominal, ocular and neurological manifestations. A special feature of the abdominal form is the presence of solitary or multiple hypo/anechoic foci of different size and shape in the liver and spleen. *B. henselae* infection is one of the most common mimics of malignant lymphoma, when the spleen is involved in combination with B symptoms (weight loss, night sweats and prolonged fever). A history of recent contact with cats and diagnostic IgG titers to *B. henselae* indicate infection. There is no consensus on the choice of antimicrobial drug and the duration of therapy for systemic forms. The article presents its own experience in the diagnosis and treatment of such patients. The patient's parents agreed to use the information, including the child's photo, in scientific research and publications.

Key words: bartonellosis, hepatolienal lesion, an/hypoechoic foci in the spleen

Lunyakova M.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 136–144. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-136-144

Bartonella henselae (*B. henselae*) – это небольшие грамотрицательные бактерии, естественным резервуаром которых являются кошки, а вектором горизонтальной передачи между ними – блохи *Ctenocephalides felis*. Схематически инфекционный цикл *B. henselae* представлен на рисунке 1.

У бродячих кошек наблюдается высокая частота бактериемии и серопозитивности [2], при этом половина домашних кошек также серопозитивны [3].

В зараженной кошке *B. henselae* обитает в эритроцитах, вызывая внутриэритроцитарную бактерию. При кровососании возбудители попадают в организм блох и выделяются с фекалиями на кожу, попадая затем при расчесывании кожи на когти и

зубы. Кошачьи царапки (повреждение кожи, сопровождающееся инокуляцией экскрементов блох) – это основной способ передачи *B. henselae* людям. Имеющиеся данные свидетельствуют также о том, что *B. henselae* может передаваться через укусы зараженной кошки или непосредственно блохами, а также при контакте со слюной кошки через поврежденную кожу или слизистые оболочки. Хотя кошки являются основным резервуаром для *B. henselae*, редкие случаи заражения описаны после контакта с собаками. Приблизительно у 90% заболевших в анамнезе есть указания на контакт с кошками [4]. При этом заражение не происходит через кошачьи царапины или укусы в отсутствие блох, поэтому наиболее эффективной профилактикой инфицирования является

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 15.09.2020
Accepted 02.02.2021

Correspondence:
Valery G. Demikhov,
MD., Head of Reserch center for
hematology, oncology and immunology of
Ryazan State Medical University named
after academician I.P. Pavlov of Ministry
of Healthcare of the Russian Federation
Address: 5B Stroiteley St.,
Ryazan 390029, Russia
E-mail: demix777@ya.ru

Рисунок 1

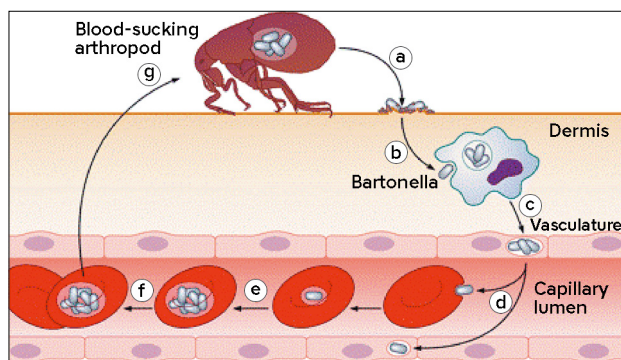
Общий инфекционный цикл *B. henselae* (источник: A. Harms и соавт. [1])

После передачи членистоногим вектором (а) бартонеллы колонизируют первичную нишу, что, вероятно, связано с проникновением в мигрирующие клетки (b) и переносом в эндотелий сосудов (с), где бактерии сохраняются внутриклеточно. Из первичной ниши бактерии попадают в кровоток (d), где они проникают в эритроциты и реинфицируют первичную нишу. После ограниченной репликации внутри эритроцитов (e) они сохраняются во внутри-эритроцитарной нише (f), способной к передаче кровососущим членистоногим (g)

Figure 1

The infection cycle of *B. henselae* (Source: Harms A., et al. [1])

Following transmission by an arthropod vector (a), the bartonellae colonize the primary niche, which probably involves entry into migratory cells (b) and transport to the vascular endothelium (c), where the bacteria persist intracellularly. From the primary niche, the bacteria are seeded into the bloodstream (d), where they invade erythrocytes and re infect the primary niche. After limited replication inside the red blood cells (e), they persist in the intraerythrocytic niche (f) competent for transmission by a bloodsucking arthropod (g)



искоренение их у кошек. Предотвращение заражения включает в себя также мытье рук после контакта с домашними животными с особенно пристальным вниманием к любым укусам или царапинам [5].

B. henselae в организме человека могут провоцировать две совершенно разные патологические реакции в зависимости от иммунного статуса хозяина: у иммунокомпетентных лиц ответ гранулематозный или гнойный в сравнении с вазопролиферативным ответом у иммунокомпрометированных пациентов [2].

Клиническая картина у иммунокомпетентных пациентов чаще всего представлена лихорадкой в сочетании с первичным аффектом на коже и регионарным лимфаденитом (типичная болезнь кошачьей царапины). Как правило, болезнь кошачьей царапины начинается с локализованной папулы, которая на 3–5-й день появляется на месте царапины и со временем трансформируется в пустулу. Регионарная лимфаденопатия развивается через 1–2 нед после инокуляции *B. henselae* и обычно длится в течение 2–3 мес. Многие пациенты с типичной симптоматикой остаются афебрильными [6]. Типичными локализациями лимфаденопатии при болезни кошачьей царапины являются аксиальная и эпитрохлеарная области (46%), голова и шея (26%), паховая область (17,5%). При ультразвуковом исследовании (УЗИ) лимфатические узлы (ЛУ), как правило, множественные, гипозоногенные, сильно васкуляризиро-

ванные, с повышенной эхогенностью окружающих мягких тканей. В случае проведения биопсии в ЛУ обнаруживают гранулемы с множественными микроабсцессами, при этом приблизительно 10% ЛУ могут нагнаиваться, тем самым требуя дренажа [7].

Атипичные клинические проявления включают широкий спектр клинических синдромов, начиная с длительной лихорадки неясного генеза и заканчивая эндокардитом, абдоминальными (с поражением печени, селезенки, почек), глазными и неврологическими проявлениями [8]. Инфекция *B. henselae* является одной из наиболее распространенных причин длительной лихорадки неясного генеза у педиатрических пациентов, причем некоторые исследования показывают, что это третья по распространенности причина продолжительной лихорадки у детей [9]. По данным литературы, гепатолиенальное поражение по данным УЗИ и компьютерной томографии (КТ) выявлялось у детей и редко у взрослых с типичной симптоматикой болезни кошачьей царапины даже без видимых системных проявлений [10, 11]. В то же время примерно в 30% случаев длительной лихорадки неясного генеза, вызванной *B. henselae*, имелось поражение печени и/или селезенки. По данным различных исследований, 60% пациентов со специфическим гепатолиенальным поражением отмечали боль в животе, характеризующуюся как эпизодическая, интенсивная, ноющая, локализованная периумбиликально и/или в области верхнего квадранта живота. При физикальном обследовании более чем у половины пациентов была выявлена гепатомегалия, спленомегалия или гепатоспленомегалия, при этом при абдоминальной визуализации 68% больных имели очаговые поражения как в печени, так и в селезенке. Лабораторно в большинстве случаев отмечалось повышение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) и уровня С-реактивного белка (СРБ) при нормальных показателях лейкоцитов и тромбоцитов, а также повышенные титры антител к *B. henselae* [3].

Абдоминальная визуализация является важным диагностическим исследованием у пациентов с подозрением на поражение печени и селезенки или в случае длительной лихорадки неясного генеза, поскольку часто может идентифицировать изменения, характерные для инфекции *B. henselae*. Ультрасонография, КТ или магнитно-резонансная томография (МРТ) могут показать солитарные или множественные очаги поражения, разные по размеру и форме в печени, селезенке и редко в почках. В имеющихся публикациях поражения обычно описывают как микроабсцессы или очаговые гипозоногенные образования по данным УЗИ и/или пониженной плотности при КТ [12–14].

Интересно отметить, что только у 55% детей с поражением печени и селезенки была выявлена

сопутствующая лимфаденопатия. Локализация гранулем в печени, вероятно, предполагает, что возбудитель *B. henselae* передается через руки при проглатывании, объясняя тем самым низкую частоту поражения ЛУ при абдоминальном поражении [3].

При прямой конъюнктивальной инокуляции *B. henselae* (через руки при втирании) развивается окулогландулярный синдром. Типичные симптомы включают лихорадку, региональную лимфаденопатию и фолликулярный конъюнктивит с ощущением инородного тела, односторонним покраснением глаз, серозным выделением и слезотечением. По данным литературы, приблизительно две трети пациентов с нейроретинитом демонстрируют серологические маркеры перенесенной инфекции *B. henselae* [15].

Диагностика инфекции *B. henselae* может быть довольно сложной, отчасти потому что многие признаки и симптомы неспецифичны и могут встречаться и при других инфекциях, таких как цитомегаловирусная инфекция, вирус Эпштейна–Барр, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), токсоплазмоз, а также при заболеваниях неинфекционной этиологии, включая злокачественные опухоли, такие как лимфома. Инфекция *B. henselae* является одним из заболеваний, наиболее часто имитирующих злокачественную лимфому. Клиническая картина наиболее запутана, когда происходит вовлечение в инфекционный процесс селезенки в сочетании с так называемыми В-симптомами (потеря веса, ночные проливные поты и длительная лихорадка), что ошибочно принимается за лимфому селезенки и приводит к ненужной спленэктомии [16].

Путь к диагнозу начинается с подробного анамнеза с прицельным выяснением возможного предшествующего контакта с кошками и серологического исследования либо путем не прямой реакции иммунофлуоресценции (НРИФ), либо с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). К сожалению, данные об эффективности серологических тестов на выявление инфекции *B. henselae* остаются неоднозначными. Чувствительность и специфичность тестов варьируют, в частности чувствительность IgM намного ниже чувствительности IgG, в то время как специфичность намного выше в тестах IgM, чем IgG, кроме того, имеют место и возможные перекрестные реакции [17]. Однако принято считать, что уровни IgG > 1:256 с высокой вероятностью указывают на острую либо недавнюю инфекцию *B. henselae* [18].

Данные о наиболее эффективной терапии инфекции *B. henselae* в литературе очень ограничены, причем большинство исследований представлены как описание серии случаев. Рандомизированное плацебо-контролируемое проспективное исследование J.W. Bass и соавт. (1998) показало

эффективность азитромицина при типичной болезни кошачьей царапины в виде уменьшения объема ЛУ на 80% в первые 30 дней после лечения у 50% пациентов, получавших данный препарат, в сравнении с 7% больных, получавших плацебо [19]. Ретроспективное исследование А.М. Margileth (1992) по оценке эффективности антибактериальной терапии у 268 пациентов с типичной болезнью кошачьей царапины показало, что ее средняя продолжительность у больных, которых не лечили либо лечили неэффективными антибиотиками, составила 14,5 нед в сравнении с 2,8 нед у пациентов, получавших антибиотики, которые были признаны эффективными: рифампицин, ципрофлоксацин, гентамицин и триметоприм-сульфаметоксазол (препараты приведены в порядке возрастания эффективности). По данным исследования, эффективность этих антибиотиков варьирует от 58 до 87%. Помимо скорости уменьшения размеров ЛУ не было выявлено значимых различий между группами исследования ни в исходе заболевания, ни в эффективности при диссеминированных формах. Поскольку антибиотикотерапия добавляет риск побочных реакций на лекарственные средства и формирования резистентной флоры, с учетом самоограничивающегося характера заболевания при его типичной регионарной форме легкой и средней тяжести у иммунокомпетентных пациентов назначение антибиотиков исследователями не рекомендовано. Лечение должно заключаться в адекватном наблюдении и назначении анальгетиков при болевом синдроме. При нагнаивании ЛУ требуется тонкоигольная аспирация гноя, что помогает исключить грибковую или микобактериальную инфекцию, злокачественный процесс, а также облегчить болезненную аденопатию, при этом разрез и дренаж не рекомендуются из-за возможности образования хронического свища. Во время аспирации игла должна быть перемещена в несколько разных мест, потому что микроабсцессы часто существуют в нескольких разделенных карманах. Для пациентов со значительной лимфаденопатией может использоваться прием азитромицина в дозе 10 мг/кг в 1-й день и 5 мг/кг со 2-го по 5-й дни [20].

Не существует единого мнения о выборе антимикробного препарата и продолжительности терапии при системных формах у иммунокомпетентных пациентов. Часто рекомендуются макролиды (эритромицин, азитромицин и кларитромицин), фторхинолоны (ципрофлоксацин), триметоприм-сульфаметоксазол и доксициклин. E.S. Arisoy и соавт. опубликовали обзор, включающий 19 детей с гепатолиенальной формой болезни кошачьей царапины, где всех пациентов лечили одним или несколькими антибиотиками, включая гентамицин (7,5 мг/кг), рифампицин (15–20 мг/кг) и триметоприм-сульфаметоксазол

(10–12 мг/кг) курсом от 10 до 21 дня. Рифампицин был предложен для антимикробного лечения гепатолиенальной формы у детей в этом исследовании [14]. В рекомендациях, опубликованных в 2004 г., для лечения осложненных атипичных форм предлагается комбинация доксициклина (100 мг внутрь или внутривенно 2 раза в день) с рифампицином (300 мг внутрь 2 раза в день) [6].

В недавнем педиатрическом исследовании С. Scolfaro (2008) показано, что макролиды или комбинация 2 активных антибиотиков в течение 2 или 3 нед приводит к быстрому клиническому ответу при гепатолиенальном поражении [21].

Анализ последних публикаций показывает, что для лечения абдоминальной формы инфекции *B. henselae* чаще других с успехом используется монотерапия азитромицином [22, 23] либо рифампицин в комбинации с азитромицином или доксициклином, или гентамицином, или триметоприм-сульфаметоксазолом [24–27]. По данным обзора 2014 г., посвященного гепатолиенальному поражению при болезни кошачьей царапины, все пациенты были вылечены без осложнений независимо от схемы лечения. В 78% случаев излечение достигалось через 2–5 (0,5–9) мес [28].

Таким образом, лечение атипичных форм инфекции *B. henselae* у иммунокомпетентных пациентов по-прежнему происходит эмпирически и восстановление, вероятно, может происходить без антибиотикотерапии.

В нашем Центре за 2017–2018 гг. выявлено 3 случая атипичной формы болезни кошачьей царапины с поражением печени и селезенки.

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

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ №1

Девочка Г., 6 лет, обратилась к врачу-гематологу с жалобами на фебрильную лихорадку до 39,0–40,0°C в течение 12 дней. По месту жительства проведен 3-дневный курс азитромицина, на фоне чего температура тела снизилась до субфебрильных цифр (максимально 37,5°C) и снова повысилась до фебрильных после отмены препарата. Проведенные в поликлинике по месту жительства общие анализы мочи и крови, рентгенограмма органов грудной клетки и УЗИ органов брюшной полости патологии не выявили.

При расспросе выяснено, что подъемы температуры тела 2 раза в сутки без ознобов, сопровождаются головными болями. Ранний анамнез ребенка без особенностей. Имел место тесный контакт с кошками (царапки), а так же укусы блох.

При осмотре состояние средней тяжести за счет длительной лихорадки. Сыпи, лимфаденопатии, гепа-

тоспленомегалии нет. Со стороны органов дыхания и кровообращения без патологии. Физиологические отправления не нарушены.

Лабораторно выявлена анемия легкой степени (эритроциты $3,9 \times 10^{12}/л$, гемоглобин 110 г/л, MCV 79,7 фл), умеренный лейкоцитоз $13,1 \times 10^9/л$ при неизменной лейкоцитарной формуле, повышение СРБ до 30 мг/л, профиль острого воспаления по результатам электрофореза белковых фракций. В целях исключения «неполного» синдрома Кавасаки было проведено трансторакальное УЗИ сердца, которое также не выявило патологии. Учитывая наличие лихорадки, маркеры острой фазы, был назначен амоксициллина клавуланат из расчета 65 мг/кг – без эффекта через 72 ч. В динамике нарастание анемии (гемоглобин 102 г/л), повышение уровня лейкоцитов до $14,8 \times 10^9/л$.

Повторное УЗИ органов брюшной полости в нашем Центре показало умеренное увеличение размеров печени (вертикальный косой размер 112 мм при норме до 102 мм), а также множественные ан-/гипоэхогенные образования в паренхиме печени и селезенки размерами до 4,6 мм с ровными контурами (рисунки 2 и 3).

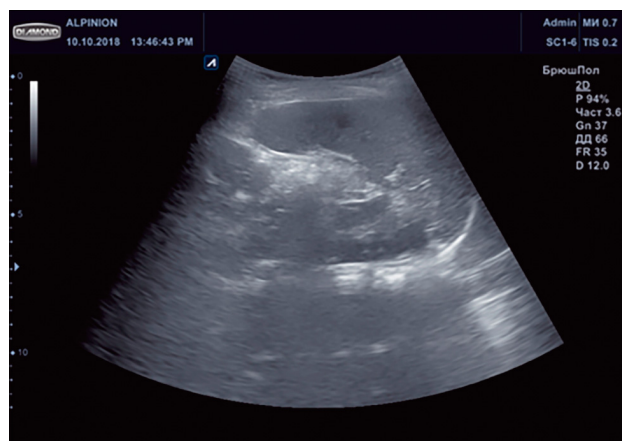
Учитывая характерную картину в виде длительной лихорадки и гипоэхогенных образований в печени и селезенке, контакт с кошками и укусы блох, подозрение на висцеральный бартонеллез, ребенку было рекомендовано серологическое исследование крови на данное заболевание, эмпирически назначен азитромицин 250 мг 1 раз в день в течение 6 дней. На фоне терапии отмечена положительная динамика в виде удлинения межлихорадочных периодов, нормализации количества лейкоцитов в гемограмме, однако присоединились отечность и разлитая гиперемия левого века. Учитывая отсутствие возможности провести исследование крови на бартонеллез в г. Рязани, эмпирически к терапии был добавлен эритромицин, который через сутки в связи с появлением многократной рвоты сменен на рифампицин. На 2-е сутки терапии родители самостоятельно отвезли ребенка в стационар коммерческой клиники г. Москвы, где с диагнозом «бактериальная инфекция, без очага» ребенок получал антибактериальную терапию в объеме: цефтриаксон в течение 3 дней без эффекта со сменой на цефепим в течение 6 дней без эффекта (сохранялись лихорадка, прогрессирующее повышение СРБ до 130 мг/л, прогрессирующее снижение концентрации гемоглобина до 90 г/л). В связи с этим родители ребенка отказались от дальнейшей терапии в стационаре, сдали кровь на бартонеллез и до получения результатов анализа крови на *B. henselae* вернулись к терапии рифампицином. Анализ крови методом НРИФ показал титр IgG 1:320. Инфекционистом поставлен диагноз «бартонеллез

Рисунок 2

Эхограмма селезенки в дебюте (сканирование конвексным датчиком): выявлены ан-/гипоэхогенные образования с ровными контурами

Figure 2

US of the spleen at the onset (scanning using a convex probe) revealed anechoic/hypoechoic masses with even contours

**Рисунок 3**

Эхограмма селезенки в дебюте (сканирование линейным датчиком): выявлены ан-/гипоэхогенные образования с ровными контурами

Figure 3

US of the spleen at the onset (scanning using a linear probe) revealed anechoic/hypoechoic masses with even contours

**Рисунок 4**

Эхограмма селезенки через 12 мес (сканирование конвексным датчиком): выявлены гиперэхогенные включения (кальцинаты)

Figure 4

US of the spleen after 12 months (scanning using a convex probe) revealed hyperechoic inclusions (calcifications)



с поражением глаз, печени и селезенки», назначена терапия доксициклином 100 мг 2 раза в день в 1-й день, затем по 100 мг 1 раз в день в течение 9 дней совместно с препаратами урсодезоксихолевой кислоты, пробиотиками. Терапия рифампицином привела к урежению подъемов температуры тела до фебрильных цифр (подъемы температуры тела реже 1 раза в сутки, которая быстро снижалась на фоне приема антипиретиков), а последующий курс доксициклина – к их полному купированию. В динамике через 4 нед после первого анализа крови методом НРИФ на *B. henselae* титр IgG 1:320(160).

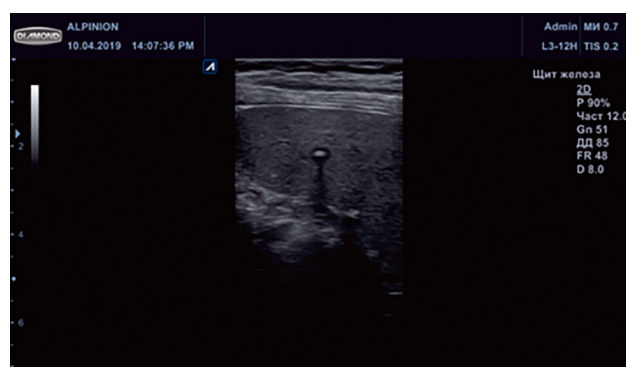
Еще в течение 1 мес после проведенной терапии у ребенка сохранялся субфебрилитет максимум до 37,5°C, столько же времени понадобилось для постепенной нормализации уровня СРБ. Дальнейшее наблюдение заключалось в контроле динамики на УЗИ со стороны образований печени и селезенки, а также коррекции анемии смешанного

Рисунок 5

Эхограмма селезенки через 12 мес (сканирование линейным датчиком): выявлены гиперэхогенные включения с дистальной акустической тенью (кальцинаты)

Figure 5

US of the spleen after 12 months (scanning using a linear probe) revealed hyperechoic inclusions with a distal acoustic shadow (calcifications)



генеза. Впервые отчетливая положительная динамика была зафиксирована только спустя 8 мес в виде уменьшения количества и размеров очагов в печени и селезенке. Через 12 мес констатировано разрешение всех очагов в печени, в селезенке очаги уменьшились в размерах, контуры стали четкими, в центре образований появились гиперэхогенные включения с дистальной акустической тенью (кальцинаты) (рисунки 4 и 5).

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ №2

Девочка, 3,5 года, обратилась к врачу-гематологу с жалобами на болезненное увеличение подчелюстного ЛУ справа в течение 1 нед, сопровождавшееся фебрильной лихорадкой в первые 2 сут. По месту жительства ребенку была проведена антибактериальная терапия цефтриаксоном в течение 5 дней без динамики со стороны пораженного ЛУ. При расспросе выяснено, что ребенок контактировал дома с котенком (взят с улицы).

При осмотре подчелюстного ЛУ справа размером $2,5 \times 2,5$ см, плотной консистенции, малоподвижный, болезненный при пальпации, другие группы ЛУ не увеличены, пальпируются печень и селезенка по краям реберных дуг. Лабораторно выявлена анемия легкой степени (эритроциты $4,2 \times 10^{12}/л$, гемоглобин 113 г/л, MCV 80,8 фл), лейкоциты $11,7 \times 10^9/л$, палочкоядерный сдвиг 9% при относительном лимфоцитозе, 17% лимфоцитов атипичные мононуклеары, повышение СРБ до 16 мг/л. С предварительным диагнозом «инфекционный мононуклеоз» ребенку было назначено обследование на антитела к цитомегаловирусу и вирусу Эпштейна–Барр (которое выявило только

антитела класса IgG к обоим вирусам) и УЗИ ЛУ и органов брюшной полости. УЗИ органов брюшной полости показало умеренное увеличение размеров печени (вертикальный косой размер 102 мм при норме до 96 мм) без изменений ее эхогенности и структуры, нормальных размеров селезенку с множественными ан-/гипоэхогенными образованиями в паренхиме размерами до $5,6 \times 4,7$ мм, с ровными контурами, а также в нижнем ее полюсе анэхогенное образование с гипоэхогенными стенками неправильной формы с неровными четкими контурами размерами $12,2 \times 10,8 \times 7,8$ мм (рисунок 6); также выявлены множественные однородные гипоэхогенные мезентериальные ЛУ размерами до $13,5 \times 5,9$ мм с незначительно усиленным сосудистым рисунком.

По данным УЗИ шейных ЛУ у угла нижней челюсти справа визуализирован однородный гипоэхогенный ЛУ, размерами $27,5 \times 9,0$ мм со значительно усиленным сосудистым рисунком в режиме цифрового доплеровского картирования. С подозрением на висцеральную форму Bartonellosis ребенку было рекомендовано исследование крови на *B. henselae*, эмпирически назначен азитромицин на 7 дней. Анализ крови методом НРИФ показал титр IgG 1:320. Параллельно ребенок обследован на ВИЧ, токсоплазмоз (отрицательно), консультирован врачом-фтизиатром (данных за туберкулез нет).

При динамическом наблюдении проводился контроль УЗ-картины со стороны подчелюстных ЛУ и органов брюшной полости. К моменту написания статьи (срок наблюдения 12 мес) констатировано уменьшение очагов в селезенке, в центре образований появились гиперэхогенные включения без дистальной акустической тени (рисунок 7).

Рисунок 6

Эхограмма селезенки в дебюте (сканирование линейным датчиком): выявлено анэхогенное образование с гипоэхогенными стенками неправильной формы с неровными четкими контурами

Figure 6

US of the spleen at the onset (scanning using a linear probe) revealed anechoic mass of irregular shape with hypoechoic walls and uneven sharp contours



Рисунок 7

Эхограмма селезенки через 6 мес (сканирование линейным датчиком): выявлено уменьшение очагов в селезенке, в центре появились гиперэхогенные включения без дистальной акустической тени

Figure 7

US of the spleen after 6 months (scanning using a linear probe) revealed a decrease in the foci and new hyperechoic inclusions in the centre of the spleen with no distal acoustic shadow



КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ №3

Девочка, 13 лет, обратилась к врачу-гематологу через 2 мес от начала заболевания в связи с наличием очаговых образований в печени и селезенке. В дебюте заболевания лихорадка, болезненное увеличение шейных ЛУ с обеих сторон, лабораторно в общем анализе крови выявлен нейтрофилез со сдвигом влево, повышение СОЭ до 32 мм/ч и уровня СРБ до 24 мг/л. Обследована на наличие геморрагической лихорадки с почечным синдромом, иерсиниоза, тифов/паратифов, лептоспироза. Результаты отрицательные. Проводилась антибактериальная терапия со сменой препаратов (цефтриаксон на цефоперазон/сульбактам) с положительным эффектом. Однако после отмены антибактериальной терапии появилась вторая волна фебрильной лихорадки с нарастанием лейкоцитоза до $15,3 \times 10^9/\text{л}$, нейтрофилеза без сдвига, увеличением СОЭ до 48 мм/ч и уровня СРБ до 24 мг/л. По данным УЗИ органов брюшной полости при нормальных размерах печени и селезенки в их паренхиме было выявлено наличие 6 ан-/гипоэхогенных округлых образований с нечеткими контурами от 6 до 12 мм в диаметре, парааортальная лимфаденопатия. В динамике через 2 нед отмечено увеличение размеров образований (в структуре печени в правой доле максимально $28 \times 18 \times 20$ мм, в левой доле максимально $40 \times 25 \times 30$ мм, в структуре селезенки максимально 12 мм) на фоне повышения СОЭ до 35 мм/ч, а через 1 мес уменьшение (в печени в левой доле 34×21 мм, в правой доле 18 мм, в селезенке 10 мм). В связи с сохраняющимися очаговыми образованиями в структуре печени и селезенки пациентка направлена к врачу-гематологу. При обследовании гепатоспленомегалии, лимфаденопатии, В-симптомов нет, общий

анализ крови, уровень СРБ в пределах нормы. В связи с подозрением на висцеральный бартонеллез проведен анализ крови на *B. henselae* методом НРИФ (титр IgG > 1:320). Из-за отсутствия лихорадки и маркеров воспаления от антибактериальной терапии решено воздержаться. В динамике через 6 мес по данным УЗИ органов брюшной полости отмечено уменьшение количества и размеров очагов в печени и селезенке.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ №4

Девочка, 10 лет, обратилась к врачу-гематологу с жалобами на безболезненное увеличение подчелюстных ЛУ с обеих сторон в течение 3 нед без сопутствующей лихорадки и катаральных симптомов. По месту жительства ребенок лечился у врача-педиатра, проведен курс антибактериальной терапии кларитромицином в течение 7 дней без эффекта. На момент осмотра врачом-гематологом пальпируются подчелюстные ЛУ с обеих сторон размерами до $3,5 \times 2,5$ см и надключичный ЛУ слева размерами $2,0 \times 1,0$ см, плотной консистенции, безболезненные при пальпации; другие группы ЛУ не увеличены, печень и селезенка не пальпируются. Лабораторно выявлен лейкоцитоз $17,9 \times 10^9/\text{л}$, нейтрофилез (палочкоядерные 11%, сегментоядерные 54%), повышение уровня СРБ до 13 мг/л. При сканировании шеи с обеих сторон под *m. sternocleidomastoideus* определяются множественные, неоднородные, без дифференцировки структуры, гипоэхогенные ЛУ, размерами до $38,2 \times 21,6$ мм, с четкими неровными контурами, сосудистым рисунком периферического типа; слева в надключичной области лоцируется подобный единичный ЛУ размером $26,8 \times 12,2$ мм. УЗИ брюшной полости показало множественные гипоэхогенные неоднородные образования в паренхиме селезенки размерами до $14,2 \times 11,5$ мм, с четкими

Рисунок 8

Эхограмма селезенки (сканирование линейным датчиком): выявлены множественные гипоэхогенные неоднородные образования с четкими контурами, в основном округлой формы, единичные – неправильной «гантелеобразной» формы

Figure 8
US of the spleen (scanning with a linear probe) revealed multiple hypoechoic heterogeneous masses with sharp contours, most of which were of a rounded shape, individual masses were of an irregular "dumbbell" shape



Рисунок 9

Эхограмма селезенки (сканирование линейным датчиком): выявлены множественные гипэхогенные неоднородные образования с четкими контурами округлой формы

Figure 9

US of the spleen (scanning with a linear probe) revealed multiple hypoechoic heterogeneous masses of a rounded shape with sharp contours



контурами, в основном округлой формы, единичные – неправильной «гантелеобразной» формы, сосудистый рисунок в них не определяется (рисунки 8 и 9).

Ребенок с подозрением на злокачественное лимфо-пролиферативное заболевание был направлен в стационар для проведения биопсии ЛУ, где гистологически верифицирована лимфома Ходжкина, пролечен.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эхогенные очаговые поражения селезенки редки и уровень их обнаружения при проведении УЗИ брюшной полости оценивается в 1% [29]. При их выявлении врач всегда сталкивается с проблемой дифференциальной диагностики, так как окончательный диагноз не может быть поставлен на основании данных одного метода визуализации, но тщательный сбор клинической информации и последующее обследование часто приводят к правильному диагнозу. У детей с очаговым гепатолиенальным поражением и подозрением на лимфо-пролиферативные заболевания следует включать в дифференциальную диагностику и атипичные формы бартоinelлеза. По данным литературы, поражение селезенки встречается в 30–40% случаев системной лимфомы (33% при лимфоме Ходжкина и 50% при неходжкинских лимфомах), в то время как первичная лимфома селезенки встречается крайне редко (менее 1%) [30]. Вторичное вовлечение селезенки при лимфоме гораздо более распространено и всегда наблюдается в ассоциации с увеличенными ЛУ вне живота [31], что должно заставить врача в первую очередь думать о злокачественном лимфо-пролиферативном заболевании, особенно при наличии В-симптомов. Недавние исследования показали, что неходжкинские лимфомы высокой степени

злокачественности часто представляют собой крупноочаговые гипэхогенные поражения, тогда как неходжкинские лимфомы низкой степени злокачественности и лимфома Ходжкина – множественные мелкоочаговые гипэхогенные или диффузные поражения селезенки (спленомегалия) [30, 32].

Таким образом, очаговые доброкачественные и злокачественные поражения селезенки могут иметь одну и ту же УЗ-картину. Висцеральная форма инфекции *B. henselae* является одной из наиболее часто имитирующих злокачественную лимфому, особенно когда наряду с вовлечением селезенки имеются поражение периферических ЛУ и В-симптомы. Хотя данные УЗИ, КТ и МРТ не являются специфичными при гепатолиенальной форме бартоinelлеза с учетом анамнеза (тесный контакт с кошками) и специфической серологии на анти-тела к *B. henselae* могут способствовать быстрой и точной диагностике. Серологическое исследование на бартоinelлез следует провести в случае наличия очаговых солитарных или множественных поражений в паренхиме печени и селезенки в сочетании с лихорадкой и фактом контакта с кошками в анамнезе. Своевременно поставленный диагноз бартоinelлеза может избавить пациента от серьезных инвазивных вмешательств.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Lunyakova M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4543-2945>

Demikhov V.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6120-4678>

Inyakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4210-3492>

Panina E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3778-7519>

Литература

- Harms A., Dehio C. Intruders below the Radar: Molecular Pathogenesis of *Bartonella* spp. Clin Microbiol Rev 2012; 25 (1): 42–78. DOI: 10.1128/CMR.05009-11
- Bass J.W., Vincent J.M., Person D.A. The expanding spectrum of *Bartonella* infections: II. cat-scratch disease. Pediatr Infect Dis J 1997; 16 (2): 163–79.
- Florin T.A., Zaoutis T.E., Zaoutis L.B. Beyond cat scratch disease: widening spectrum of *Bartonella henselae* infection. Pediatrics 2008; 121 (5): e1413–25.
- Pennisi M.G., Marsilio F., Hartmann K., Lloret A., Addie D., Belák S., et al. *Bartonella species* infection in cats. ABCD guidelines on prevention and management. J Feline Med Surg 2013; 15 (7): 563–9.
- Chomel B.B., Boulouis H.J., Breitschwerdt E.B. Cat scratch disease and other zoonotic *Bartonella* infections. J Am Vet Med Assoc 2004; 224 (8): 1270–9.
- Rolain J.M., Brouqui P., Koehler J.E., Maguina C., Dolan M.J., Raoult D. Recommendations for treatment of human infections caused by *Bartonella species*. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48 (6): 1921–33.
- Massei F., Gori L., Macchia P., Maggiore G. The expanded spectrum of bartonellosis in children. Infect Dis Clin North Am 2005; 19 (3): 691–711.
- Zenone T. Systemic *Bartonella henselae* Infection in Immunocompetent Adult Presenting as Fever of Unknown Origin. Case Rep Med 2011; 2011: 183937. DOI: 10.1155/2011/183937
- Jacobs R.F., Schutze G.E. *Bartonella henselae* as a cause of prolonged fever and fever of unknown origin in children. Clin Infect Dis 1998; 26 (1): 80–4.
- Fretzayas A., Papadopoulos N.G., Moustaki M., Bossios A., Koukoutsakis P., Karpathios T. Unsuspected extralymphocutaneous dissemination in febrile cat scratch disease. Scand J Infect Dis 2001; 33 (8): 599–603.
- Ventura A., Massei F., Not T., Massimetti M., Bussani R., Maggiore G. Systemic *Bartonella henselae* infection with hepatosplenic involvement. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1999; 29 (1): 52–6.
- Mortele' K.J., Segatto E., Ros P.R. The infected liver: radiologic-pathologic correlation. Radiographics 2004; 24 (4): 937–55.
- Gilliaux O., Ghilain V., van der Linden D., Stalens J.P., Heijmans C., Louis J., et al. Atypical cat-scratch disease in children: report of seven presentations ranging from hepatosplenic disease to horner syndrome. Arch Pediatr Infect Dis 2016; 4 (1): e28272.
- Arisoy E.S., Correa A.G., Wagner M.L., Kaplan S.L. Hepatosplenic cat-scratch disease in children: selected clinical features and treatment. Clin Infect Dis 1999; 28 (4): 778–84.
- Cunningham E.T., Koehler J.E. Ocular bartonellosis. Am J Ophthalmol 2000; 130 (3): 340–9.
- Ghez D., Bernard L., Bayou E., Bani-Sadr F., Vallee C., Perronne C. *Bartonella henselae* infection mimicking a splenic lymphoma. Scand J Infect Dis 2001; 33 (12): 935–6.
- Vermeulen M.J., Verbakel H., Notermans D.W., Reimerink H.J., Peeters M.F. Evaluation of sensitivity, specificity and cross-reactivity in *Bartonella henselae* serology. J Med Microbiol 2010; 59 (6): 743–5.
- Klotz S.A., Ianas V., Elliott S. P. Cat-scratch disease. Am Fam Physician 2011; 83 (2): 152–5.
- Bass J.W., Freitas B.C., Freitas A.D., Sisler C.L., Chan D.S., Vincent J.M., et al. Prospective randomized double-blind placebo-controlled evaluation of azithromycin for treatment of cat-scratch disease. Pediatr Infect Dis J 1998; 17 (6): 447–52.
- Margileth A.M. Antibiotic therapy for cat-scratch disease: clinical study of therapeutic outcome in 268 patients and a review of the literature. Pediatr Infect Dis J 1992; 11 (6): 474–8.
- Scolfaro C., Leunga G.G.K., Bezzio S., Chiapello N., Riva C., Balbo L., et al. Prolonged follow up of seven patients affected by hepatosplenic granulomata due to cat-scratch disease. Eur J Pediatr 2008; 167 (4): 471–3.
- Chang C.C., Lee C.J., Ou L.S., Wang C.J., Huang Y.C. Disseminated cat-scratch disease: case report and review of the literature. Paediatr Int Child Health 2016; 36 (3): 232–4.
- Wakiguchi H., Okamoto Y., Matsunaga M., Kodama Y., Miyazono A., Seki S., et al. Multiple Renal and Splenic Lesions in Cat Scratch Disease. Jpn J Infect Dis 2016; 69 (5): 424–5.
- Aoki Y., Kitazawa K. Cat-scratch disease with hepatosplenic lesions in two brothers. IDCases 2016; 4: 13–4.
- Verma S.K., Martin A., Montero J.A. Atypical Cat Scratch Disease With Hepatosplenic Involvement. Clin Gastroenterol Hepatol 2017; 15 (1): e5–6.
- Atici S., Kepenekli Kadayifci E., Karaaslan A., Toper H.M., Ataizi Celikel C., Soy-sal A., et al. Atypical Presentation of Cat-Scratch Disease in an Immunocompetent Child with Serological and Pathological Evidence. Case Rep Pediatr 2014; 2014: 397437. DOI: 10.1155/2014/397437
- Rising T., Fulton N., Vasavada P. Spleno-renal Manifestations of *Bartonella henselae* Infection in a Pediatric Patient. Case Rep Radiol 2016; 2016: 7803832. DOI: 10.1155/2016/7803832
- García J.C., Núñez M.J., Castro B., Fernández J.M., Lopez A., Portillo A., et al. Hepatosplenic Cat Scratch Disease in Immunocompetent Adults. Report of 3 Cases and Review of the Literature. Medicine (Baltimore) 2014; 93 (17): 267–79.
- Köhler M., Kubale R. Differential Echogenic Focal Splenic Lesion Diagnosis. Praxis (Bern 1994) 2003; 92 (22): 1037–42. DOI: 10.1024/0369-8394.92.22.1037
- Caremani M., Occhini U., Caremani A., Tacconi D., Lapini L., Accorsi A., et al. Focal splenic lesions: US findings. J Ultrasound 2013; 16 (2): 65–74. DOI: 10.1007/s40477-013-0014-0
- Kaza R.K., Azar S., Hawary M.M., Francis I.R. Primary and secondary neoplasms of the spleen. Cancer Imaging 2010; 10 (1): 173–82. DOI: 10.1102/1470-7330.2010.0026
- Chen M.J., Huang M.-J., Chang W.-H., Wang T.-E., Wang H.-Y., Chu C.-H., et al. Ultrasonography of splenic abnormalities. World J Gastroenterol 2005; 11 (26): 4061–6. DOI: 10.3748/wjg.v11.i26.4061

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-145-155

В поисках редкой болезни: врожденные гемангиомы

Л.А. Хачатрян, И.И. Чиквина, И.С. Клецкая

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

Врожденные гемангиомы – это редкие доброкачественные сосудистые опухоли, развивающиеся внутриутробно и полностью сформированные к моменту рождения. В зависимости от способности к инволюции выделяют три субтипа: RICH (Rapidly involuting congenital hemangioma), NICH (non involuting congenital hemangioma), PICH (partially involuting congenital hemangioma). Один из субтипов (RICH) может сопровождаться тромбоцитопенией и коагулопатией потребления. Несмотря на четко очерченные клинические и гистологические характеристики, бывает сложно провести дифференциальный диагноз между врожденными гемангиомами и другими вариантами сосудистых опухолей (инфантильная гемангиома, капошиформная гемангиоэндотелиома/«пучковая» ангиома и др.). Приведенный в статье клинический случай сосудистой опухоли у новорожденного ребенка, осложненный тромбоцитопенией и коагулопатией потребления, был расценен как синдром Казабаха–Мерритт, в основе которого лежат капошиформная гемангиоэндотелиома/«пучковая» ангиома. Быстрые регресс опухоли и восстановление показателей гемограммы и коагулограммы, а также анамнез заболевания и инициальные характеристики опухоли заставили пересмотреть диагноз. На основании гистологической картины был подтвержден диагноз врожденной гемангиомы, субтип RICH. Верификация диагноза позволила изменить тактику терапии и воздержаться от необходимости проведения химиотерапии. За гигантской гемангиомой, сопровождающейся тромбоцитопенией и коагулопатией потребления, может скрываться весьма благоприятный исход – полное разрешение патологического процесса, заложенного в его естественном течении. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: врожденная гемангиома, синдром Казабаха–Мерритт, сосудистые опухоли.

Хачатрян Л.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 145–155. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-145-155

Rapidly involuting congenital hemangioma

Л.А. Khachatryan, I.I. Chikvina, I.S. Kletskaia

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

Congenital hemangiomas are rare benign vascular tumors that develop in utero and are fully formed by the time of birth. Depending on the ability to involution, there are three subtypes: RICH (rapidly involuting congenital hemangioma), NICH (non involuting congenital hemangioma), PICH (partially involuting congenital hemangioma). PICH may be accompanied by thrombocytopenia and consumption coagulopathy. Despite clearly defined clinical and histological characteristics, it can be difficult to make a differential diagnosis between congenital hemangiomas and other vascular tumors (infantile hemangioma, kaposiform hemangioendothelioma/“fascicular” angioma and others). The clinical case in the article of a vascular tumor in a newborn complicated by thrombocytopenia and consumption coagulopathy was regarded as Kazabach-Merritt syndrome, which is based on kaposiform hemangioendothelioma/“fascicular” angioma. Rapid regression of the tumor and recovery of hemogram and coagulogram parameters, as well as anamnesis of the disease and initial characteristics of the tumor forced to reconsider the diagnosis. Based on the histological picture, the diagnosis of congenital hemangioma, RICH, was confirmed. Verification of the diagnosis made it possible to change therapeutic tactics and avoid chemotherapy. A giant hemangioma, accompanied by thrombocytopenia and consumption coagulopathy, may have a very favorable outcome – a complete resolution of the pathological process inherent in its natural course. The patient’s parents agreed to use the information, including the child’s photo, in scientific research and publications.

Key words: congenital hemangioma, Kazabach-Merritt syndrome, vascular tumors

Khachatryan L.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 145–155. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-145-155

Термин «ангиома» впервые был введен Вирховым в 1862 г. [1]. До середины 1970-х годов все поверхностные сосудистые аномалии были объединены под термином «ангиома». Ангиомы в зависимости от отсутствия или наличия в них крови подразделялись на лимфангиомы и гемангиомы. Среди последних выделяли капиллярные или кавернозные с учетом калибра задействованных сосудов. В последующем и другие термины, такие как туберозная, поверхностная ангиома, или сравнительные термины, отражающие сходства опухоли с продук-

тами («клубника», «малина», «винное пятно»), появились и надолго закрепились в терминологии врачей, приводя порой к ужасной путанице, давая совершенно разные названия одному и тому же патологическому процессу. Эта неточность в описании нозологических форм приводит к перманентным ошибкам, обуславливая сложности в диагностике, терапии и статистике.

В 1982 г. была опубликована первая классификация Mulliken и Glowacki. Она основывалась на биологии и пролиферативном потенциале сосудистых аномалий [2].

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 21.09.2020
Принята к печати 02.02.2021

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

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 21.09.2020
Accepted 02.02.2021

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: 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia
E-mail: lili.2510@yandex.ru

В 1992 г. под руководством Mulliken было создано Международное общество по изучению сосудистых образований (International Society for the Study of Vascular Anomalies, ISSVA), опубликовавшее в 1996 г. классификацию, которая учитывала клинические, радиологические, гистологические и гемодинамические характеристики сосудистых аномалий, что позволило стандартизировать номенклатуру [3].

Суффикс «ома», отражающий наличие пролиферативного процесса, отныне используется только для обозначения опухолевой природы заболевания, а ранее применявшийся термин «ангиома» в настоящее время не подразумевает всю сосудистую патологию. Введенное понятие «сосудистые аномалии» объединяет две большие группы патологий: сосудистые опухоли и сосудистые мальформации [4]. На рисунке 1 приведена упрощенная схема-классификация сосудистых аномалий.

Наиболее частой сосудистой опухолью у детей является ИГ. Она относится к группе доброкачественных опухолей согласно классификации ISSVA. ИГ имеет четкие клинические и гистологические характеристики, позволяющие дифференцировать ее от любой другой сосудистой опухоли. Однако за ИГ у новорожденных принимаются менее часто встречающиеся сосудистые образования, которые могут в некоторых случаях подвергнуться обратной инволюции, персистировать или быть причиной серьезных осложнений. К ним относят: врожденные гемангиомы, «пучковую» ангиому (ПА), капошиформную гемангиоэндотелиому (КГЭ).

Термин «врожденные гемангиомы» объединяет сосудистые опухоли, которые относятся к доброкачественным сосудистым новообразованиям, возникающим внутриутробно, и к моменту рождения ребенка уже полностью сформированы. В отличие от ИГ они не подвергаются пролиферативному процессу в пост-

натальном периоде. В настоящее время известны их четкие характеристики: клинические, патологические, гистологические и прогностические. Выделяют три субтипа:

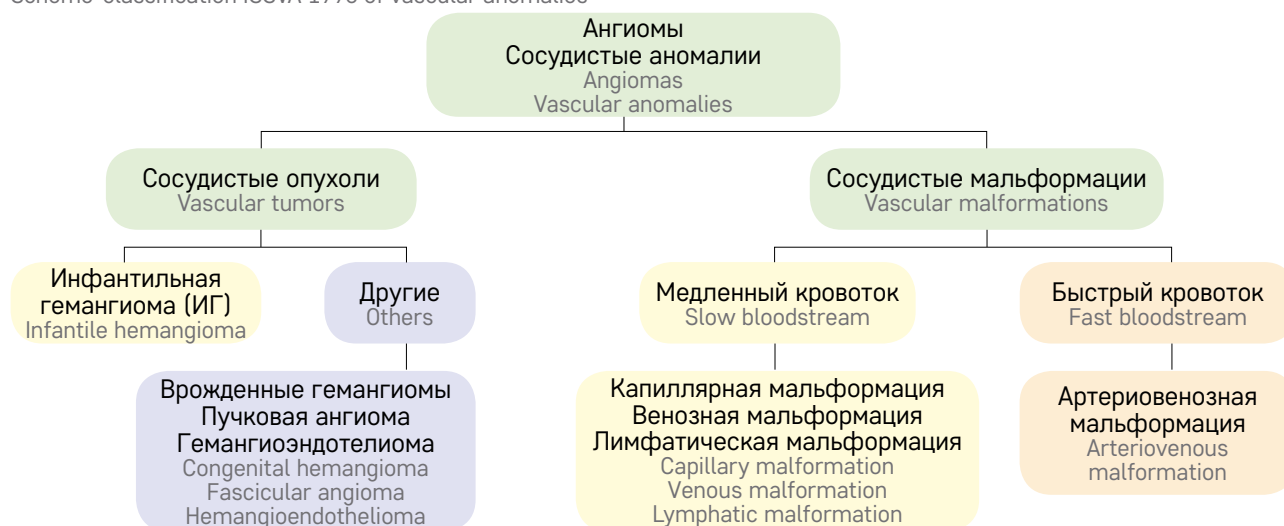
1. RICH (rapidly involuting congenital hemangioma – быстроинволютирующая врожденная гемангиома).
2. NICH (non involuting congenital hemangioma – неинволютирующая врожденная гемангиома).
3. PICH (partially involuting congenital hemangioma – частично инволютирующая врожденная гемангиома).

Клиническая характеристика

RICH. Название было введено в 2001 г. [5]. Частота встречаемости у мальчиков и девочек одинаковая. Опухоль может выявляться уже во II–III триместре беременности при помощи ультразвуковой доплерографии (УЗДГ), всегда сформирована к моменту рождения и, соответственно, не проходит стадию роста в постнатальном периоде, что клинически отличает ее от ИГ. Сразу после рождения начинается этап инволюции. Локализуется она с одинаковой частотой на конечностях (вблизи крупных суставов) и в области головы/шеи (лоб, височная область, щечная, волосистая часть головы), преимущественно в околоушной области, крайне редко – на туловище. Опухоль развивается подкожно. Как правило, она представлена в виде массивного образования, выступающего над поверхностью, и имеет несколько сантиметров в диаметре. При пальпации опухоль умеренно плотная, местами разной консистенции, теплая на ощупь, часто многоузловая [6]. Кожа над образованием тонкая, легко ранимая. Она может быть бледная или иметь синюшно-фиолетовый цвет, с перифокальным «галом» (ободок гипопигментации), представленным кожей обычного цвета. На ее поверхности могут

Рисунок 1
Схема-классификация сосудистых аномалий ISSVA 1996 г.

Figure 1
Scheme-classification ISSVA 1996 of vascular anomalies



просматриваться телеангиэктазии, радиально расположенные, или она может быть «усыпана» в центре гладкими красными узлами. УЗДГ позволяет определить наличие широких сосудов с быстрым кровотоком, способных разорваться и быть причиной массивного кровоизлияния. Такое осложнение может наблюдаться в центральной части опухоли при развитии некроза в зоне локализации крупных сосудов. RICH относится к сосудистым опухолям, которые также могут сопровождаться тромбоцитопенией и коагулопатией потребления, как правило, умеренно выраженными.

Эта опухоль всегда подвергается обратной инволюции, причем гораздо быстрее, чем ИГ, в среднем к первому году жизни (обычно в интервале 6–18 месяцев) [6, 7]. Интенсивный регресс сопровождается локальной липоатрофией.

Необходимо отметить, что RICH может иметь и висцеральную локализацию, в частности, может быть причиной развития фокальной формы гемангиомы печени. В отличие от ИГ, которая является причиной развития мультифокальных и диффузных форм поражения печени, фокальная форма гемангиомы печени выявляется уже на последних неделях внутриутробного развития. Она выполняет все классические гистологические и иммуногистохимические критерии RICH. По данным компьютерной (КТ) и магнитно-резонансной (МРТ) томографии с контрастным усилением определяется четко очерченная солитарная сферическая опухоль с центрипетальным характером контрастирования и центральным рубцом в связи с наличием тромбозов, некрозов или внутриопухолевого кровоизлияния. Кроме того, определяются кальцинаты, количество которых увеличивается по мере инволюции опухоли [8]. На T1-изображениях – гипоинтенсивная, на T2-изображениях – гиперинтенсивная [9]. Фокальная гемангиома печени характеризуется также наличием высокоскоростных шунтов (артериовенозных или портовоенозных). В большинстве случаев клинические симптомы отсутствуют. В некоторых случаях фокальная гемангиома печени может сопровождаться легкой анемией и тромбоцитопенией [8]. Однако при больших размерах образования могут развиваться грозные осложнения: сердечная недостаточность, обусловленная увеличенным венозным возвратом из внутрипеченочных шунтов, а также абдоминальный компартмент-синдром [9]. Однако данные осложнения чаще встречаются при диффузной форме поражения печени, которые являются ИГ [8].

NICH. NICH так же, как и RICH, очень редкая, спорадически встречающаяся опухоль, которая полностью сформирована к рождению [10]. Этиология неизвестна. Локализация поражения аналогична таковой при RICH. С рождения NICH менее объемная (менее протяженная), нежели RICH. Она плоская или слегка выпуклая, всегда монофокальная. Окраска

центральной части варьирует от розового цвета до темно-фиолетового с тонкими, близко расположенными телеангиэктазиями, по периферии белого цвета «гало». Для NICH характерны артериовенозные микрофистулы, которые хорошо определяются на УЗДГ [6]. Опухоль никогда не регрессирует, персистирует на протяжении жизни, пропорционально увеличиваясь с возрастом ребенка, особенно в периоде пубертата, окружая себя более заметными дренирующими венозными сосудами. NICH никогда не приводит к серьезным жизнеугрожающим осложнениям, доставляет исключительно эстетические проблемы.

PICH. В 1/3 случаев сосудистая опухоль, похожая на RICH при рождении, не регрессирует полностью. В таких случаях речь идет о PICH.

В одном из ретроспективных исследований, проведенном в Университете г. Бордо (V. Braun) по изучению профиля эволюции врожденных гемангиом, было проанализировано 57 случаев (период наблюдения составил 13 лет) и показано, что серьезные осложнения, такие как сердечная недостаточность и тромбоцитопения, возникают редко. При PICH и NICH чаще встречается болевой синдром, а изъязвления больше характерны для PICH. В целом клинические характеристики для трех субтипов одинаковы, что еще раз подтверждает их общую природу, несмотря на то, что они имеют разную эволюцию (рисунки 2).

Гистология [12]

RICH. При гистологическом исследовании выявляются расположенные среди большого количества фиброзированной соединительнотканной стромы четко очерченные узлы различной величины, содержащие правильно сформированные капилляры от мелкого до среднего калибра. Эндотелиальные клетки набухшие, без атипии. Базальная мембрана тонкая в участках «свежего» патологического процесса, в последующем утолщается. В каждом узле хорошо дифференцируется дренирующий сосуд. Инволюция начинается в центральной зоне узла и происходит путем инфаркта, а не апоптоза, как в ИГ. Депозиты гемосидерина и кальция, как и участки с тромбами, обнаруживаются в течение инволюции. Нередко обнаруживаются лимфатические сосуды и очаги экстрамедуллярного гемопоэза [7, 13].

NICH. NICH по сравнению с RICH состоит из больших узелков, сформированных из более крупных и расширенных сосудов с «нежными» стенками, которые содержат слой перicyтов. Сосуды имеют звездчатый, извитой просвет, а эндотелиальные клетки иногда имеют вид «обойного гвоздя». Некоторые из них содержат внутрицитоплазматические включения. Дренирующие сосуды определяются в каждом узелке (дольке). Экстралобулярные сосуды достаточно широкие. Узлы разделены плотной фиброзной

тканью, которая содержит артериолы, аномальные вены и артериовенозные фистулы, придающие патологическому процессу больше аспект мальформации, нежели опухоли. В отличие от RICH нет депозитов гемосидерина или тромбов. Могут выявляться кальцификаты. При иммуногистохимическом исследовании в эндотелии патологических сосудов определяется экспрессия CD34, CD31, Erg, экспрессия SMA – в перicyтах и гладкомышечных элементах сосудистой стенки дренирующих сосудов.

До наступления инволюции клинические варианты морфологически неразличимы.

Иммуногистохимическое исследование

Эти опухоли всегда:

1. GLUT-1 (glucose transporter 1 – белок, транспортирующий глюкозу) – негативные. Это белок, который специфическим образом экспрессируется на эндотелии микрососудов барьерных тканей (плацента, центральная нервная система, сетчатка, радужка), не выявляясь в сосудах других здоровых тканей и других сосудистых образованиях, за исключением ИГ и веррукозной венуло-капиллярной мальформации [14].

2. WT1 (Wilms tumor 1 – маркер эндотелиальных клеток всех сосудистых опухолей) – позитивные. Этот маркер позитивен в эндотелиальных клетках, имеющих пролиферативный потенциал.

Терапия

RICH. Врожденная гемангиома не требует лечения, так как относится к потенциально быстро регрессирующим опухолям, оставляя после себя зону липоатрофии, иногда с умеренно выраженной гиперемией кожи и телеангиэктазиями.

NICH. Единственным методом лечения является хирургическое удаление опухоли, иногда с предварительной эмболизацией питающего сосуда, так как

оперативное вмешательство может сопровождаться значимым кровотечением из артериовенозных шунтов [4]. Эмболизация проводится за 24 ч до проведения хирургического вмешательства в целях уменьшения кровотечения из артериовенозных шунтов. В последующем возможно проведение пластической реконструкции.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

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

Ребенок родился на 36-й неделе гестации с нормальными антропометрическими данными. По шкале Апгар 6/6 баллов за счет выраженной дыхательной недостаточности. При рождении диагностированы двусторонняя пневмония, гигантская гемангиома (рисунком 3) левого бедра протяженностью от паховой складки до коленного сустава (впервые была выявлена антенатально на 27-й неделе гестации), гепатоспленомегалия (+ 4 см/+2 см из-под края реберной дуги), геморрагический синдром – кровоточивость из верхних дыхательных путей. Сразу после рождения ребенок был переведен на искусственную вентиляцию легких.

По месту жительства проведено обследование в следующем объеме:

1. Общий анализ крови: лейкоциты – $23 \times 10^9/\text{л}$, гемоглобин – 92 г/л (при рождении), тромбоциты – $21 \times 10^9/\text{л}$; нормобласты 42:100.

2. Коагулограмма: фибриноген – 1,1 г/л.

3. Эхокардиография: дилатация полостей сердца, регургитация на митральном клапане, сброс слева направо – открытый аортальный проток 2,1 мм.

4. Ультразвуковое исследование сосудов левой ноги: дилатация вен левой нижней конечности, арте-

Рисунок 2
Эволюция врожденных гемангиом [11]

Figure 2
Evolution of congenital hemangiomas [11]



риовенозные множественные соустья с формированием большого объемного возврата крови к сердцу.

5. КТ пораженной конечности: деформация мягких тканей передней поверхности левого бедра за счет наличия кавернозной гемангиомы размерами $7,5 \times 6 \times 2,6$ см (объем 61 см^3), активно кровоснабжаемой расширенными и извитыми ветвями бедренной артерии. В средней трети бедра контур гемангиомы сливается с мышцами.

6. МРТ головного мозга: субарахноидальное кровоизлияние (в раннем неонатальном периоде), субдуральная гематома правой височной области.

7. Невролог: левосторонний пирамидный синдром.

На основании данных клинического осмотра и обследования ребенку был поставлен диагноз: кавернозная гемангиома, синдром Казабаха–Мерритт (СКМ).

После постановки диагноза была инициирована специфическая терапия:

- преднизолон в начальной дозе 5 мг/кг/сут с последующим постепенным снижением и полной отменой через 7 нед.

- 2 курса 2-недельной метрономной терапии (МТ) в составе циклофосфан $50 \text{ мг/м}^2/\text{сут}$ в течение 14 дней + винбластин 1 мг/м^2 3 раза в неделю (всего 6 доз). Интервал между курсами МТ – 14 дней.

Специфическая терапия проводилась на фоне сопроводительной, которая включала противомикробную, а также трансфузионную терапию (тромбоцитарная взвесь – №2, свежезамороженная плазма – №5, эритроцитарная масса – №6).

После проведенного 1-го курса МТ в комбинации с преднизолоном был достигнут гематологический ответ (восстановление количества тромбоцитов – $329 \times 10^9/\text{л}$ и фибриногена – $2,29 \text{ г/л}$), отмечено уменьшение окружности пораженного бедра на 2 см, над всей поверхностью образования сформировался гигантский черный струп (рисунок 4).

Спустя 2 мес от начала терапии ребенок был направлен для дальнейшего лечения в НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

При поступлении в области левого бедра (от паховой складки до надколенника) определялось гигантское объемное образование, плотное, безболезненное; кожа над образованием изменена и представлена коркой каменистой плотности черного цвета максимальной толщиной 0,4 см – струп (постнекротические изменения). Отмечается вторичное инфицирование мягких тканей под струпом: гнойно-слизистое зловонное отделяемое.

При обследовании:

1. Общий анализ крови: лейкоциты – $9,5 \times 10^9/\text{л}$, гемоглобин – 114 г/л , тромбоциты – $144 \times 10^9/\text{л}$.

2. Коагулограмма: фибриноген – $1,59 \text{ г/л}$ (норма $2\text{--}3,93 \text{ г/л}$), D-Димер – 765 нг/мл (норма $0\text{--}243 \text{ нг/мл}$).

Рисунок 3

Гигантская гемангиома левого бедра (при рождении)

Figure 3

Giant hemangioma of left thigh (at birth)



Рисунок 4

Вторичные изменения мягких тканей левого бедра (струп) в области врожденной гемангиомы

Figure 4

Secondary changes in the soft tissues of the left thigh (eschar) in the area of congenital hemangioma



3. Пересмотр КТ с места жительства (рисунки 5 и 6): в аксиальной, коронарной и сагиттальной проекциях, а также в 3D-реконструкции в мягких тканях левого бедра определяется массивное гиперваскулярное образование общим объемом опухоли 70 см^3 .

Учитывая клиническую характеристику опухоли, а также динамику заболевания – очень быстрый ответ на терапию (после первого курса восстановление показателей гемограммы и коагулограммы, уменьшение размеров образования), было сделано предположение, что у ребенка имеет место иной гистологический вариант гемангиомы, нежели КГЭ/ПА (именно данный гистологический вариант лежит в основе СКМ). Для верификации диагноза была проведена биопсия образования (после 2 курсов МТ).

До получения результатов гистологического исследования было решено провести третий блок МТ в комбинации с неселективными β -блокаторами – пропранололом в дозе 2 мг/кг/сут .

При гистологическом исследовании была выявлена сосудистая опухоль дольчатого строения (рисунк 7), расположенная среди отекающей, местами склерозированной соединительной ткани. Ткань опухоли с четкими границами, характер роста экспансивный. Неопластическая ткань состоит из компактно расположенных тонкостенных мелких кровеносных сосудов (рисунк 8), которые выстланы уплощенным либо выступающим в просвет эндотелием без признаков цитологической атипии (рисунк 9). В центре долек и на периферии образования встречаются сосуды крупного калибра (питающие/дренирующие) (рисунк 8). Встречаются очаги экстрамедуллярного гемопоэза (рисунк 9). По данным иммуногистохимического исследования определяется экспрессия CD31, CD34 (рисунк 10), реакция с антителами к GLUT1 – отрицательная (рисунк 11). В эндотелии щелевидных лимфатических сосудов отмечается экспрессия подопланина (рисунк 12).

Рисунок 5

3D-реконструкция, венозная фаза контрастирования. Массивное гипervasкулярное образование левого бедра

Figure 5
3D-reconstruction, venous phase of contrast enhancement. Massive hypervascular mass in the left thigh

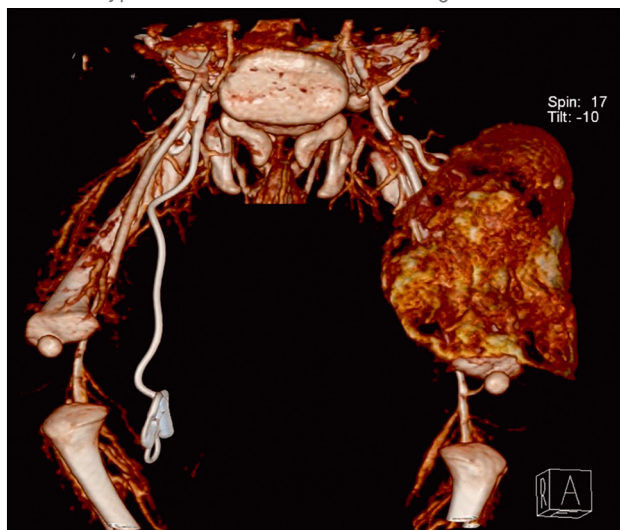
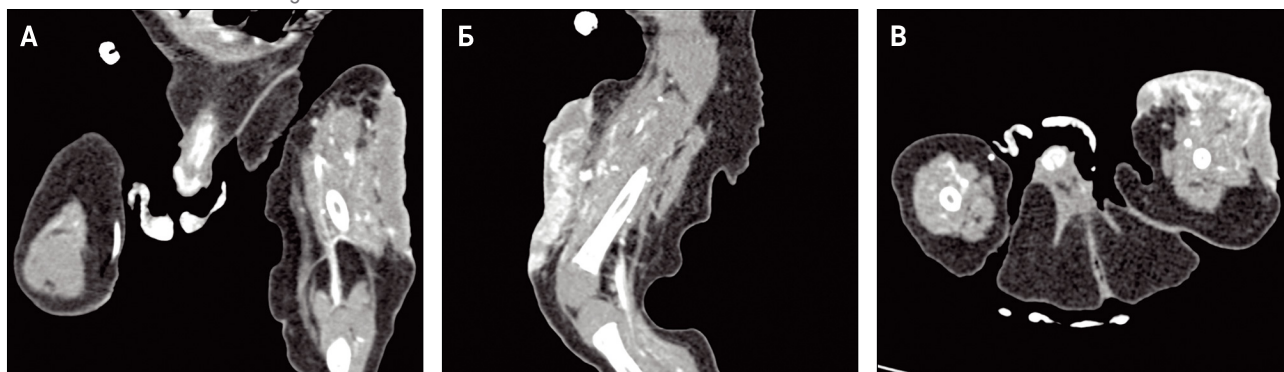


Рисунок 6

КТ в коронарной (А), сагитальной (Б) и аксиальной (В) проекциях, венозная фаза контрастирования. В мягких тканях левого бедра определяется массивное гипervasкулярное образование

Figure 6
CT in coronal (A), sagittal (B), and axial (B) projections, venous phase of contrast enhancement. Massive hypervascular mass in the soft tissues of left thigh



Таким образом, на основании данных анамнеза, клинического осмотра, динамики заболевания и результатов гистологического исследования, ребенку был поставлен диагноз: врожденная гемангиома, субтип RICH.

После верификации диагноза от дальнейшей интенсивной терапии (MT) было решено воздержаться, однако учитывая объем поражения была продолжена терапия неселективными β -блокаторами, а также противомикробная терапия в связи с развитием вторичного инфицирования мягких тканей под некротическим струпом. На момент выписки пациента из стационара отмечена выраженная положительная динамика в виде сокращения размеров образования (уменьшение объема бедра на 4 см), практически полное отторжение некротизированной ткани (рисунк 13).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В педиатрии для большинства сосудистых аномалий диагностика в основном является клинической. В 90% случаев анамнез (возраст появления), клиническая картина и оценка эволюции в течение ближайших месяцев достаточны для верификации диагноза. Тем не менее иногда бывает сложно отличить не только RICH от NICH, но и провести дифференциальный диагноз с другими сосудистыми опухолями: ИГ, ПА и КГЭ (таблица 1).

ИГ. Ее всегда легко отличить от любой другой сосудистой опухоли. Основным отличительным иммуногистохимическим маркером для ИГ является GLUT1. Фенотип эндотелиальных клеток во всех стадиях жизненного цикла гемангиомы аналогичен микрососудам плаценты, для которых характерна специфическая экспрессия GLUT1. Экспрессия GLUT1 выявляется в 100% случаев ИГ и он всегда негативен при других формах гемангиом.

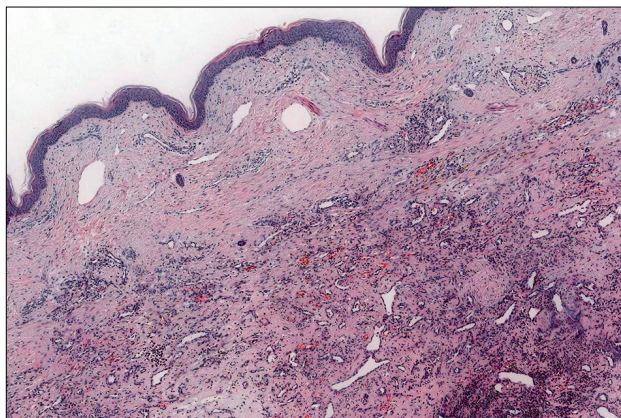
ПА. Врожденная или приобретенная (как правило, до 5-летнего возраста) ПА [15], чаще имеющая хроническое течение и медленно прогрессирующая, она

Рисунок 7

Кожа с ростом сосудистой опухоли дольчатого строения. Окраска гематоксилином и эозином, × 100

Figure 7

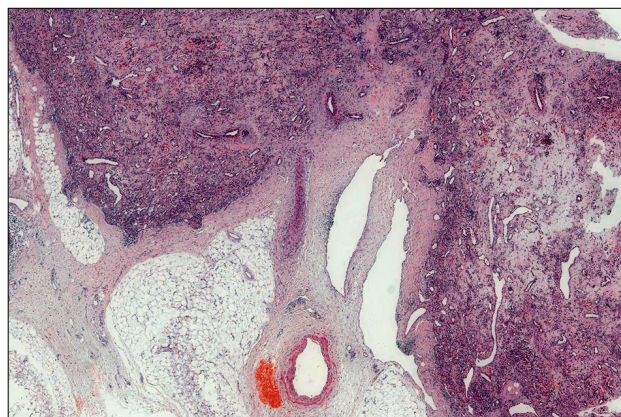
Skin with a growing vascular tumor with a lobular structure. Hematoxylin and eosin staining, × 100

**Рисунок 8**

Неопластическая ткань с экспансивным характером роста, состоит из тонкостенных мелких кровеносных сосудов, расположенных среди отекающей стромы. Встречаются (питающие/дренирующие) сосуды более крупного калибра. Окраска гематоксилином и эозином, × 100

Figure 8

Neoplastic tissues with expansive growth containing small thin-walled blood vessels lying in an edematous stroma and occasional larger (feeding/draining) vessels. Hematoxylin and eosin staining, × 100



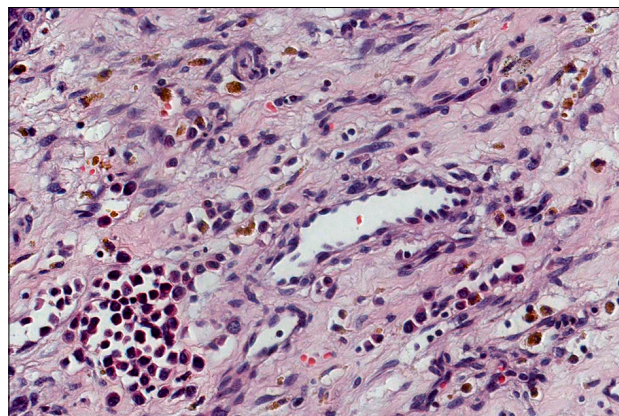
была описана Jones Wilson в 1989 г. [16]. Как потом оказалось, впервые она была упомянута полвека тому назад японскими авторами и называлась ангиобластомой Nakagawa [17]. Не всегда легко провести дифференциальную диагностику с другими сосудистыми опухолями при малом объеме биопсийного материала, так как обе они состоят из четко отграниченных узлов, или, как их образно называют в литературе, «зерен свинца». Узлы расположены дискретно, построены из двух компонентов: пучков вытянутых клеток и мелких тонкостенных капилляров. Клетки вытянутой формы с овальными ядрами с мелкодисперсным хроматином, мелкие ядрышки присутствуют в единичных клетках. Митотическая активность и цитологическая атипия не определяются. Капилляры преимущественно щелевидной или полулунной формы.

Рисунок 9

Сосуды выстланы уплощенным либо выступающим в просвет эндотелием без признаков цитологической атипии. Встречаются очаги экстрамедуллярного гемопоэза. Окраска гематоксилином и эозином, × 400

Figure 9

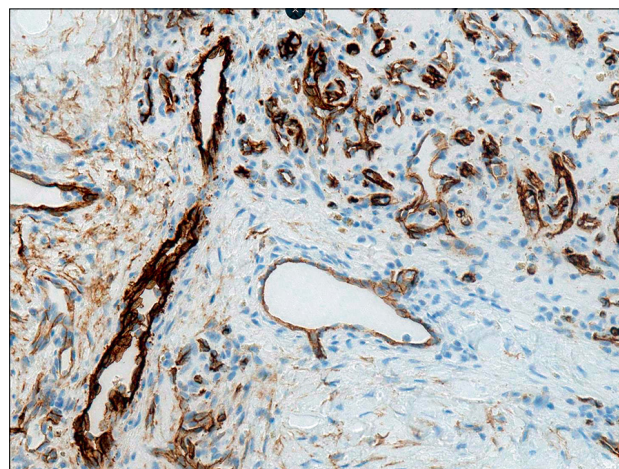
The vessels are lined with endothelial cells (either flattened or projecting into the lumen) without any signs of cytologic atypia. Occasional foci of extramedullary hematopoiesis. Hematoxylin and eosin staining, × 400

**Рисунок 10**

В эндотелии патологических сосудов определяется экспрессия CD34, × 200

Figure 10

CD34 expression in the endothelium of the pathological vessels, × 200



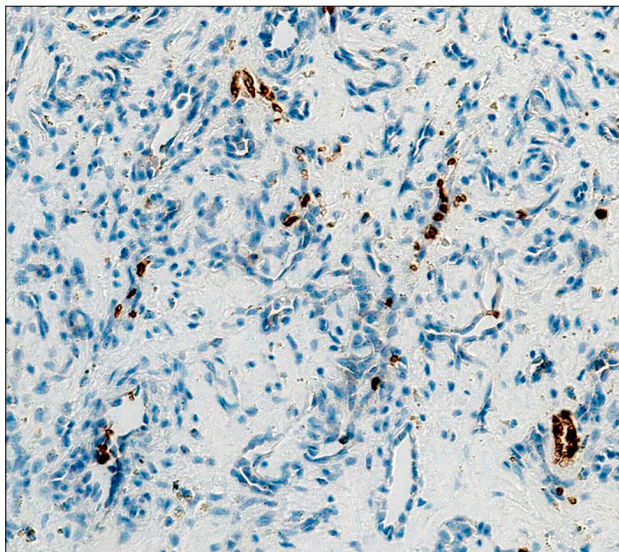
При иммуногистохимическом исследовании клетки образования тотально экспрессируют CD31, CD34. Экспрессия подопланина и фактора VIII определяется в эндотелии некоторых щелевидных тонкостенных сосудов. ПА GLUT1-негативна. Преимущественно опухоль локализуется в области плечевого пояса, шеи, проксимальных отделов конечностей. Клинически она представлена либо инфильтрирующим красным пятном, плохо отграниченным, либо многочисленными с разной степенью интенсивности красными папулами. Отмечается болезненность при пальпации, иногда достаточно выраженная [15]. Может отмечаться локальный гипертрихоз и/или гипергидроз. Описаны случаи спонтанного регресса. В некоторых случаях при локализации опухоли на конечностях происходит инфильтрация

Рисунок 11

В эндотелии патологических сосудов негативная реакция с антителами к GLUT1, × 200

Figure 11

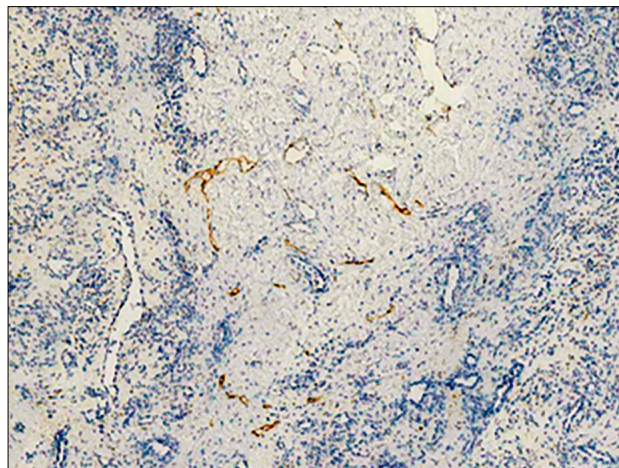
The endothelium of the pathological vessels is negative for GLUT1, × 200

**Рисунок 12**

Вблизи питающих/дренирующих сосудов определяются немногочисленные щелевидные лимфатические сосуды (в эндотелии определяется экспрессия подопланина), × 200

Figure 12

Near the feeding/draining vessels, there are a small number of slit-like lymphatic vessels (with Podoplanin expression in the endothelium), × 200

**Рисунок 13**

Состояние сосудистого образования в динамике: в процессе лечения и естественной инволюции

Figure 13

The vascular tumor during treatment and natural involution



и склерозирование кожи [18]. Склеротические изменения могут затрагивать подлежащие мышцы и суставы с развитием тяжелых функциональных расстройств. ПА может осложниться развитием СКМ.

КГЭ. Это очень редкая сосудистая опухоль (частота неизвестна). Она может выявляться или быть незаметной с рождения с постепенным увеличением в течение первых месяцев жизни. Это сосудистое образование, которое характеризуется гигантскими размерами с преимущественной локализацией на конечностях, в области верхнего плечевого пояса и шеи. По своим характеристикам – это опухоль с промежуточной степенью злокачественности, т. е. она обладает локально инфильтративным ростом, но без способности к метастазированию.

Характерно увеличение регионарных лимфатических узлов. Образование представлено ярко-красным пятном, слегка возвышающимся, горячим и плотным при пальпации с выраженным инфильтративным компонентом, представляя единое целое с подлежащими тканями. Иногда на поверхности отмечаются гипертрихоз и гипергидроз. Опухоль может сопровождаться болевым синдромом, который возникает при кровоизлиянии в ее ткань. Гистологически отличается от ПА более высокой клеточностью и диффузным расположением элементов. Неопластическая ткань построена из разновеликих concentрических скоплений клеток овальной и вытянутой формы вокруг центрально расположенных тонкостенных кровеносных сосудов. Митотическая активность варьирует от низкой до 1–2 фигур митоза в

Таблица 1
Дифференциальный диагноз основных сосудистых опухолей

Table 1
The differential diagnosis of the most common vascular tumors

Вариант Variant	Характеристика Characteristic	Возраст Age	Клиника Clinic	Преимущественная локализация Preferential Localization	Эволюция Evolution	Лечение Treatment
ИГ Infantile hemangioma	Приобретенная/ Доброкачественная Acquired/benign	1–3 нед (поверхностная ИГ) 3–4 мес (подкожная ИГ) 1–3 weeks (superficial infantile hemangioma) 3–4 months (subcutaneous infantile hemangioma)	Ярко-красная, бугристая (поверхностная) В виде опухоли от бледной до синюшного цвета (подкожная) сочетание признаков (смешанная) Bright red, bumpy (superficial) In the form of a tumor from pale to bluish color (subcutaneous), a combination of signs (mixed)	Голова/шея Head/neck	1. Спонтанный регресс 2. Осложнения 1. Spontaneous regression 2. Complications	1. Наблюдение 2. Пропранолол 1. Observation 2. Propranolol
RICH	Врожденная/ доброкачественная Congenital/benign	Внутриутробно In utero	Гигантский узел фиолетового цвета, теплый Giant purple knot, warm	Голова/шея/ конечности Head/neck/ limbs	Спонтанный регресс к 6–18 месяцам (100%) Spontaneous regression by 6–18 months (100%)	Наблюдение Observation
NICH	Врожденная/ доброкачественная Congenital/benign	Внутриутробно In utero	Гигантский узел фиолетового цвета, теплый Giant purple knot, warm	Голова/шея/ конечности Head/neck/ limbs	Нет спонтанной регрессии Without spontaneous regression	Хирургическое удаление Surgical removal
ПА/КГЭ ТА/КНА	Приобретенная/ промежуточная степень злокачественности Acquired/ intermediate grade of malignancy	< 5 лет < 5 years	Плотное инфильтративное пятно, горячее, от нормального до ярко-красного/ бордового цвета, болезненное; локальный гипергидроз/гипертрихоз Dense infiltrative spot, hot, from normal to bright red/ bard color, painful; local hyperhidrosis/hypertrichosis	Шея/плечевой пояс/ проксимальные отделы конечностей Neck/shoulder girdle/ the proximal parts of the extremities	Риск развития СКМ Risk of SCM	Гормоны/ химиотерапия Hormones/ chemotherapy

одном поле зрения при увеличении микроскопа $\times 400$. При иммуногистохимическом исследовании клетки опухоли экспрессируют CD34, CD31, в щелевидных сосудах и веретеновидных клетках на периферии долек определяется экспрессия подопланина. Экспрессия SMA – в гладкомышечных элементах сосудистой стенки. Негативная реакция с антителами к GLUT1 [19].

В настоящее время известно, что КГЭ является основной причиной развития СКМ: тромбоцитопения и коагулопатия потребления с угрозой кровотечения и кровоизлияния. При развитии данного синдрома отмечается выраженный локальный геморрагический синдром, а летальность составляет 30%. В более редких случаях (в отличие от ПА) она может не сопровождаться развитием СКМ. Диагноз ставится клинически, а также на основании лабораторных исследований (общий анализ крови, коагулограмма + D-Димер) и данных визуализации (КТ/МРТ с контрастным усилением). В сомнительных случаях может быть выполнена биопсия с гистологическим и иммуногистохимическим исследованием.

Почему порой так сложно бывает провести дифференциальный диагноз даже на основании дополнительных исследований? Что общего имеют эти сосудистые опухоли (RICH, КГЭ, ПА)? Что делает их схожими между собой не только клини-

чески, но и биологически? Это наличие лимфатических сосудов! Есть ли связь между лимфатическим фенотипом опухоли и тромбоцитопенией? Безусловно! Сосудистые опухоли, вовлекающие в патологический процесс лимфатические сосуды, могут способствовать захвату тромбоцитов с образованием тромбов и с развитием коагулопатии потребления. Маркером эндотелиальных клеток лимфатических сосудов является подоплатин (рисунки 12 и 14).

Подоплатин – естественный лиганд рецептора CLEC-2, который высоко экспрессируется на тромбоцитах. CLEC-2 известен как сильный активатор тромбоцитов [20, 21]. Связывание подопланина с рецептором CLEC-2, похоже, является основным активатором образования тромбов, что наблюдается при опухолях с подоплатин-позитивным лимфатическим фенотипом (рисунок 15).

В таблице 2 представлены сосудистые опухоли, которые могут сопровождаться тромбоцитопенией и/или коагулопатией потребления.

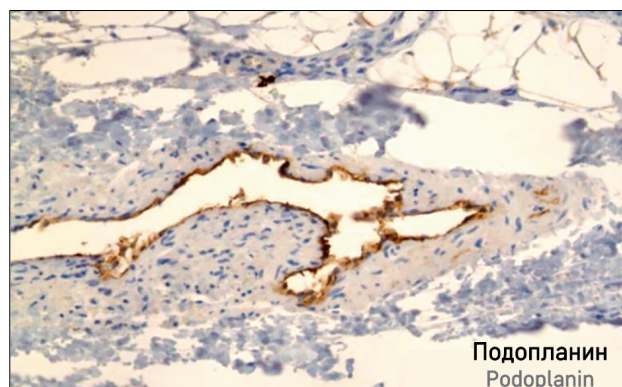
ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Большинство гемангиом очень легко распознать, диагноз клинический и не требует дополнительных исследований.

Главным шагом в постановке диагноза является анамнез, в частности возраст возникновения образования. Так сосудистые образования, которые полностью сформированы к рождению и не обладают пролиферативным потенциалом после рождения, скорее всего, относятся к врожденным гемангиомам. Если сосудистое образование появилось после рождения (обычно в первые 3–4 нед), имеет тенденцию к росту в течение 6–12 мес с последующей медленной инволюцией, можно думать об ИГ. Что касается КГЭ, то она может выявляться как сразу после рождения, так и в ближайшие 3–4 мес после рождения, обладает способностью к росту и распространению в подлежащие ткани, без склонности к самостоятельному разрешению патологического процесса. Другим важным критерием для диагностики является клинический аспект образования: цвет, наличие или отсутствие инфильтрации подлежащих тканей, локальная температура, болевой синдром, а также наличие геморрагического синдрома, локальных изменений кожи в области гемангиомы (гипергидроз, гипертрихоз). Диагностика заболевания может быть дополнена УЗИ и МРТ

Рисунок 14
Экспрессия подопланина

Figure 14
Podoplanin expression



[22, 23]. В некоторых ситуациях показана биопсия образования (надо помнить об очень высоком риске кровотечения) для исключения как сосудистых образований, так и других неоплазий (инфантильный миофиброматоз, инфантильная фибросаркома, рабдомиосаркома и др.).

Рисунок 15
Взаимодействие эндотелиальной клетки с тромбоцитом путем связывания подопланина с рецептором CLEC-2

Figure 15
Interaction of an endothelial cell with a platelet by binding podoplanin to the CLEC-2 receptor

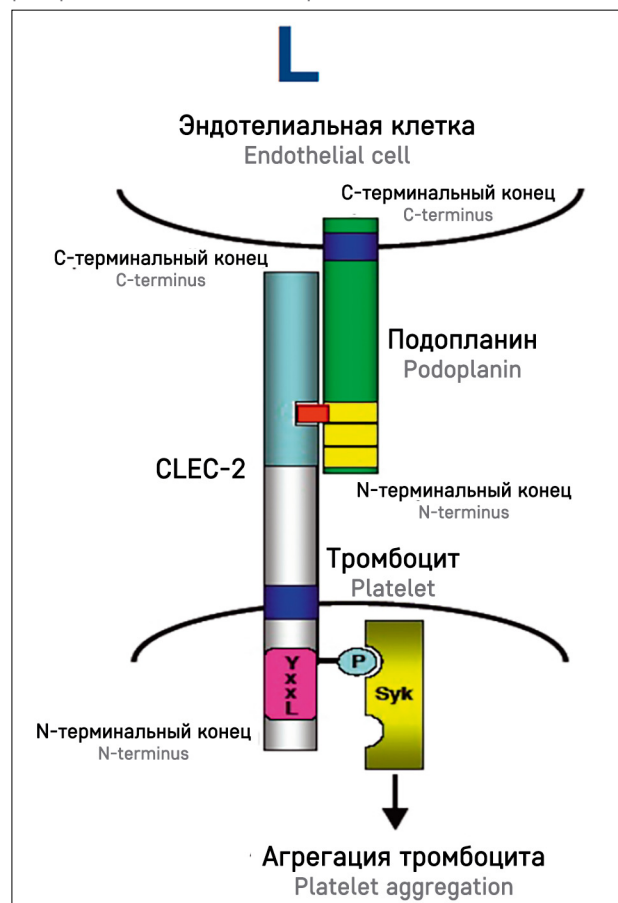


Таблица 2

Сосудистые опухоли, которые могут сопровождаться тромбоцитопенией и/или коагулопатией потребления

Table 2

Vascular tumors that may be accompanied by thrombocytopenia and/or coagulopathy

Сосудистая опухоль Vascular tumor	Характеристика Characteristics
ПА/КГЭ Tufted angioma/Kaposiform hemangioendothelioma	Глубокая стойкая тромбоцитопения с тяжелой гипофибриногенемией, коагулопатией потребления и повышением D-Димера: СКМ Profound and sustained thrombocytopenia with profound hypofibrinogenemia, consumptive coagulopathy and elevated D-dimer (Kasabach-Merritt phenomenon)
RICH	Транзиторная легкая/умеренная тромбоцитопения +/- коагулопатия потребления с повышением уровня D-Димера Transient mild/moderate thrombocytopenia, +/- consumptive coagulopathy and elevated D-dimer
Мультифокальный лимфангиоэндотелиоматоз с тромбоцитопенией/кожно-висцеральный ангиоматоз с тромбоцитопенией Multifocal lymphangioendotheliomatosis with thrombocytopenia/cutaneous/visceral angiomatosis with thrombocytopenia	Стойкая, периодическая, от умеренно выраженной до тяжелой тромбоцитопения с кровотечением из желудочно-кишечного тракта или геморрагией в паренхиму легкого Sustained, fluctuating, moderate to profound thrombocytopenia with gastrointestinal tract bleeding or pulmonary hemorrhage
Капошиформный лимфангиоматоз Kaposiform lymphangiomatosis	Легкая или умеренно выраженная тромбоцитопения +/- гипофибриногенемия и повышение уровня D-Димера Mild to moderate thrombocytopenia +/- hypofibrinogenemia, and D-dimer elevation

Благодаря использованию иммуногистохимического исследования с антителами к GLUT1, гистологическая диагностика ИГ не составляет трудностей в любой фазе ее биологического цикла. Кроме того, при ИГ никогда не выявляются артериовенозные фистулы.

Необходимость в биопсии возникает и в тех случаях, когда опухоль очень большая и клинически напоминает КГЭ/ПА и/или сопровождается тромбоцитопенией и коагулопатией потребления. Тромбоцитопения и коагулопатия при RICH обычно имеют умеренно выраженный и самоограниченный характер и не сопровождаются жизнеугрожающими кровотечениями [24]. Тем не менее RICH может быть ошибочно принят за СКМ, в основе которого лежат КГЭ и ПА. Именно так произошло и у нашего пациента. Верификация варианта сосудистой аномалии, безусловно, является очень важной не только с академической точки зрения, но самое главное и с прогностической. Зная гистологический вариант и, соответственно, биологию опухоли, можно правильно выбрать тактику терапии, избегая агрессивных методов лечения и травмирующих оперативных вмешательств, которые могут ставить под угрозу жизнь пациента. Спустя 15 мес мы видим прекрасный результат инволюции сосудистого образования (рисунок 16).

Рисунок 16

Вторичные остаточные рубцовые изменения мягких тканей левого бедра в области ранее выявляемой гемангиомы

Figure 16

Secondary residual scarring of the soft tissues of the left thigh in the area of previously detected hemangioma



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>

Литература

- Salazard B. Les anomalies vasculaires de l'enfant. *Mt pédiatrie* 2009; 12: 58–65.
- Mulliken J.B., Glowacki J. Hemangiomas and vascular malformations in infants and children: A classification based on endothelial characteristics. *Plast Reconstr Surg* 1982; 62 (3): 412–22. DOI: 10.1097/00006534-198203000-00002
- Enjolras O., Mulliken J.B. Vascular tumors and vascular malformations (new issues). *Adv Dermatol* 1997; 13: 375–423.
- Enjolras O., Picard A., Soupre V. Hémangiomes congénitaux et autres tumeurs vasculaires infantiles rares. *Annales de Chirurgie Plastique Esthétique* 2006; 51 (4–5): 339–46.
- North P.E., Waner M., James C.A., Mizeracki A., Frieden I.J., Mihm M.C. Congenital nonprogressive hemangioma. A distinct clinicopathologic entity unlike infantile hemangioma. *Arch Dermatol* 2001; 137: 1607–20.
- Chiaverini C., Kurzenne J.Y., Rogopoulos A., Ortonne J.P., Lacour J.P. Hemangioma congenital non-involutive: deux cas. *Ann Dermatol Vénéréol* 2002; 129: 735–7.
- Berenguer B., Mulliken J.B., Enjolras O., Boon L.M., Wassef M., Josset P., et al. Rapidly involuting congenital hemangioma: clinical and histopathologic features. *Pediatr Dev Pathol* 2003; 6 (6): 495–510. DOI: 10.1007/s10024-003-2134-6
- Kulungowski A.M., Alomari A.I., Chawla A., Christison-Laday E.R., Fishman S.J. Lessons from a liver hemangioma registry: subtype classification. *J Pediatric Surg* 2012; 47 (1): 165–70. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2011.10.037
- Christison-Laday E.R., Burrows P.E., Alomari A., Dubois J., Kozakewich H.P., Lane T.S., et al. Hepatic hemangiomas: subtype classification and development of a clinical practice algorithm and registry. *J Pediatr Surg* 2007; 42: 62–8.
- Enjolras O., Mulliken J.B., Boon L.M., Kozakewich H.P.W., Burrows P.E. Non-involuting congenital hemangioma: a rare cutaneous vascular anomaly. *Plas Reconstr Surg* 2001; 107:1647–54.
- Peschechodova E. Prise en charge de l'hémangiome infantile. These pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. 2015:19.
- Wechesler J. Pathologie cutanée tumorale. 2nd edition. 2016. Pp. 280–281.
- Nasseri E., Piram M., McCuaig C.C., Kokta V., Dubois J., Powell J. Partially involuting congenital hemangiomas: A report of 8 cases and review of the literature. *J Am Acad Dermatol* 2014; 70: 75–9.
- Holland K.E., Drolet B.A. Infantile hemangioma. *Pediatr Clin N Am* 2010; 57: 1069–83.
- Satter E.K., Graham B.S., Gibbs N.F. Congenital tufted angioma. *Pediatr Dermatol* 2002; 19: 445–7.
- Wilson-Jones E., Orkin M. Tufted angioma (angioblastoma): a benign progressive angioma not to be confused with Kaposi's sarcoma or low-grade angiosarcoma. *J Am Acad Dermatol* 1989; 20: 214–25.
- Igarashi M., Oh-I T., Koga M. The relationship between angioblastoma (Nakagawa) and tufted angioma: report of four cases with angioblastoma and a literature-based comparison of the two conditions. *J Dermatol* 2000; 27: 537–42.
- Catteau B., Enjolras O., Delaporte E., Friedel J., Brevière G.M., Wassef M., et al. Angiome en touffes sclerosant. À propos de quatre observations. *Ann Dermatol Vénéréol* 1998; 125: 682–7.
- Lyons L.L., North P.E., Mac-Moune Lai F., Stoler M.N., Folpe A.L., Weiss S.W. Kapoiform hemangioendothelioma. A study of 33 cases emphasizing its pathologic, immunophenotypic, and biologic uniqueness from juvenile hemangioma. *Am J Surg Pathol* 2004; 28: 559–68.
- Мартыанов А.А., Канева В.Н., Пантелеев М.А., Свешникова А.Н. CLEC-2-индуцированная внутриклеточная сигнализация в тромбоцитах крови. *Биомедицинская химия* 2018; 64 (5): 387–96.
- Глуханюк Е.В., Демина М.А., Игнатова А.А., Орехова Е.В., Хачатрян Л.А., Пантелеев М.А. Первый опыт оценки функции активности тромбоцитов у больных с синдромом Казабаха-Мерритт. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунологии в педиатрии* 2016; 15 (4): 21–7.
- Konec O., Burrows P.E., Mulliken J.B., Fishman S.J., Kozakewich H.P.W. Angiographic features of rapidly involuting congenital hemangioma (RICH). *Pediatr Radiol* 2003; 33: 15–9.
- Rogers M., Lam A., Fischer G. Sonographic findings in a series of rapidly involuting congenital hemangioma. *Pediatr Dermatol* 2002; 19: 5–11.
- Baselga E., Cordisco M.R., Garzon M., Lee M.T., Alomar A., Blei F. Rapidly involuting congenital haemangioma associated with transient thrombocytopenia and coagulopathy: a case series. *Br J Dermatol* 2008; 158: 1363.

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 10.11.2020
Принята к печати 02.02.2021

Контактная информация:

Калинина Маргарита Павловна, врач-оториноларинголог отделения онкологии и детской хирургии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: lormp@yandex.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-156-159

Псевдоопухоль верхней челюсти у ребенка первого года жизни как первое проявление гемофилии В

М.П. Калинина, А.В. Пшонкин, Н.С. Грачев, А.В. Полетаев, Д.В. Федорова, П.А. Жарков

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

Псевдоопухоль (ПО) – редкое осложнение гемофилии, возникающее не более чем в 1–2% случаев. Наиболее часто поражаются длинные трубчатые кости, кости таза, кистей и стоп. В мировой литературе описано 16 пациентов с поражением в области верхней челюсти при гемофилии. В статье приводится клинический случай наблюдения патологического образования с поражением верхней челюсти и деструкцией костей лицевого скелета у годовалого мальчика. Дифференциальный диагноз пациента включал злокачественные и доброкачественные образования верхней челюсти, воспалительные процессы. При обследовании ребенка был выявлен дефицит IX фактора свертывания и установлен диагноз: гемофилия В. Пациенту проведена операция по удалению образования на фоне специфической заместительной терапии и верифицирована внутрикостная организующая гематома. ПО верхней челюсти у ребенка была первым проявлением гемофилии. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фото ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: псевдоопухоль, гемофилия А, гемофилия В, поражение верхней челюсти, дети

Калинина М.П. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 156–159. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-156-159

Pseudotumor of the maxilla as first presentation of hemophilia B in a 1-year-old male

M.P. Kalinina, A.V. Pshonkin, N.S. Grachev, A.V. Poletaev, D.V. Fedorova, P.A. Zharkov

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

Pseudotumor is a rare complication of hemophilia with a prevalence 1–2% of all clinical cases. Commonly bone lesions affect long tubular bones, the pelvis, wrist and foot bones. According to world science literature only 16 cases of maxilla bone lesions in patients with hemophilia were found. This article describes a clinical case of maxilla pathological lesion with the destruction of facial skeleton bones in a one year old boy. The differential diagnosis included malignant and benign neoplasia, inflammatory processes. During laboratory examination a deficiency of IX coagulation factor was revealed and the patient was diagnosed with hemophilia B. The patient underwent surgical treatment by removing the lesion with specific replacement therapy; an intraosseous organizing hematoma was verified. The maxilla pseudotumor in this child was a manifestation of hemophilia. The patient's parents agreed to use the information, including the child's photo, in scientific research and publications.

Key words: pseudotumor, hemophilia A, hemophilia B, lesion of the maxilla, children

Kalinina M.P., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 156–159. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-156-159

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPOH»

Received 10.11.2020
Accepted 02.02.2021

Correspondence:

Margarita P. Kalinina, an otorhinolaryngologist at the Department of Oncology and Pediatric Surgery, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia
E-mail: lormp@yandex.ru

Псевдоопухоль (ПО) бедренной кости у 11-летней девочки при гемофилии впервые была описана I. Starker в 1918 г. [1]. Это редкое осложнение встречается в 1–2% случаев среди пациентов, страдающих гемофилией [2]. Наиболее часто ПО поражает длинные трубчатые кости, кости таза, кистей и стоп, локализация в челюстно-лицевой области встречается крайне редко [3]. ПО возникает в результате рецидивирующих кровотечений в мягкие ткани и кости. Она проявляется безболезненным быстрорастущим образованием с постепенной деструкцией окружающих тканей [4]. Подобная клиническая картина характерна для злокачественных опухолей, в лечении которых необходимо проведение биопсии или радикального удаления. Выполнение даже малоинвазивных вмешательств у

пациентов с гемофилией без проведения заместительной терапии препаратами факторов свертывания может привести к фатальному кровотечению.

Выделяют 3 типа ПО:

- 1) кровотечения в мышцы с резорбцией окружающих костных тканей;
- 2) поднадкостничные кровотечения с последующим истончением периоста и формированием некрозов «от давления»;
- 3) внутрикостные кровоизлияния [5].

При гистологическом исследовании ПО представляет собой инкапсулированную гематому на различных этапах организации [4].

Д.Р. Сох и соавт. в 2011 г. опубликовали статью, в которой проанализировали 16 случаев развития ПО в челюстно-лицевой области при гемофилии.

Согласно этим данным, ПО встречается в возрасте от 6 месяцев до 34 лет (средний возраст 11,6 года). Ведущей жалобой пациентов является наличие безболезненной опухоли с тенденцией к быстрому росту. Средний размер поражения в челюстно-лицевой области составляет 4,9 см (от 3,0 до 10,0 см). Интересно отметить, что чаще встречалось снижение VIII фактора свертывания (гемофилия А) и лишь в 2 случаях наблюдался дефицит IX фактора (гемофилия В) [6].

В лечении ПО исторически применялись различные методы: эмболизация, лучевая терапия, чрескожная аспирация, энуклеация и радикальное хирургическое удаление. Эмболизация не используется в качестве самостоятельного метода лечения, а выполняется лишь как этап перед удалением образования. Лучевая терапия применяется при нерезектабельных образованиях у лиц пожилого возраста. Чрескожная аспирация и заполнение дефекта фибриновым клеем – довольно эффективная и недорогая методика, но не устраняет косметических дефектов при внутрикостных поражениях. Хирургическое удаление в настоящее время является единственным радикальным методом лечения, но требует тщательного контроля уровня активности фактора свертывания крови [7]. Таким образом, при выборе эффективного метода лечения ПО учитываются объем и локализация поражения, а также возраст пациента.

Важно понимать, что образование в детском возрасте с очагами костной деструкции может иметь злокачественный характер. В таких случаях необходимо проведение инвазивных манипуляций, таких как биопсия или удаление образования. Проведение хирургических вмешательств без обеспечения

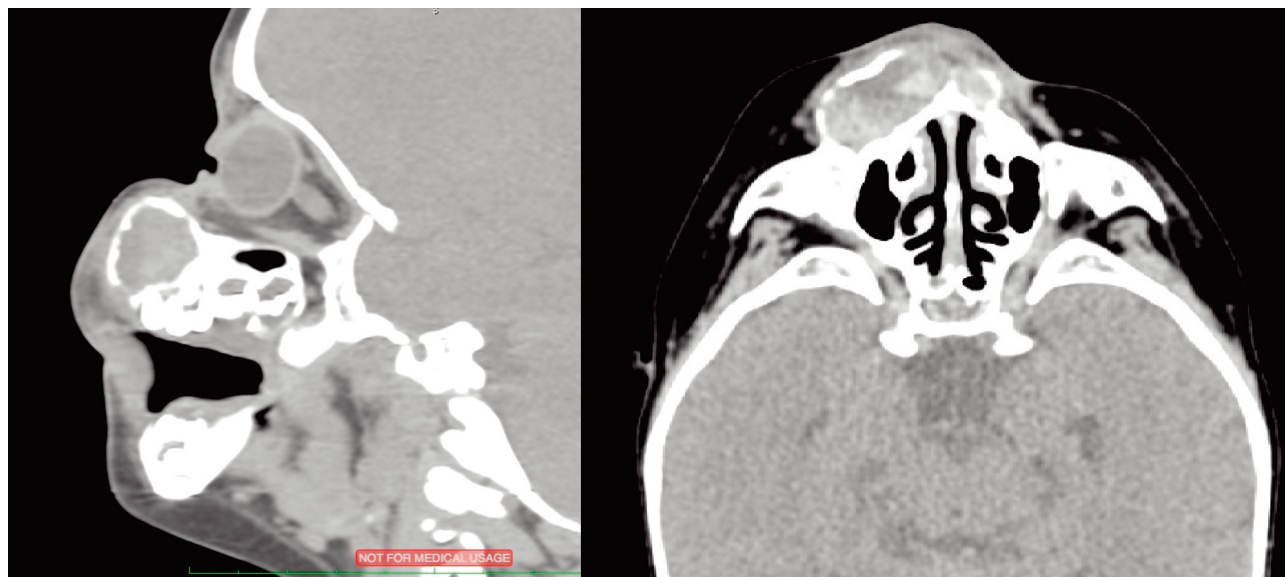
стабильного гемостаза у пациентов с коагулопатиями может сопровождаться жизнеугрожающими кровотечениями.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фото ребенка, в научных исследованиях и публикациях. В феврале 2015 г. в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева обратились родители годовалого мальчика с жалобами на безболезненное образование в области верхней челюсти справа, которое было выявлено около 2 мес назад. В течение 1,5 мес образование постепенно увеличивалось в размере. Ребенок был госпитализирован в стационар кратковременного лечения для дообследования и определения тактики лечения. Пациенту выполнена компьютерная томография лицевого скелета, по данным которой имеет место увеличение в объеме верхней челюсти справа с замещением кости мягкотканым содержимым с неравномерным истончением костной ткани по периферии, размерами 42 × 28 × 5 мм (рисунок 1). При проведении предоперационного обследования выявлено удлинение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) до 163,1 с. При сборе анамнеза выяснилось, что в возрасте 9 месяцев у ребенка имела место травма с формированием гематомы мягких тканей в правой щечной области. Признаки повышенной кровоточивости в виде легкого возникновения посттравматических экхимозов отмечались с 8-месячного возраста. Более ранних проявлений геморрагического синдрома не отмечено: заживление пуповины, прорезывание зубов, внутримышечные инъекции и заборы периферической

Рисунок 1
Компьютерная томография лицевого скелета

Figure 1
Computed tomography of the facial skeleton



капиллярной крови кровотоком не сопровождались, кефалогематомы при рождении не было.

Учитывая выявленную гипокоагуляцию, было проведено контрольное обследование, в котором подтверждена изолированная гипокоагуляция по АЧТВ, ассоциированная со снижением активности IX фактора свертывания крови до 4,3% (нормальные значения 50–150%). При исследовании количества и функции тромбоцитов, а также активности фактора Виллебранда и VIII, X, XI, XII факторов свертывания патологии не выявлено. Тесты на волчаночный антикоагулянт с ядом гадюки Рассела и кварцевым активатором – отрицательные. Таким образом, ребенку установлен диагноз: гемофилия В, среднетяжелая форма.

При осмотре ребенка на коже голени выявлены единичные экхимозы обычной окраски. Видимые слизистые оболочки чистые, розовые. При осмотре лица обращает внимание его асимметрия за счет припухлости в правой щечной области около 3 см. Образование при пальпации плотное, безболезненное. При риноскопии в полость носа не распространяется. При ороскопии в преддверии рта в области верхней челюсти справа выше зубного ряда образование правильной округлой формы, покрытое цианотичной слизистой оболочкой, при дотрагивании не кровоточит.

По данным лабораторного дообследования в коагулограмме от 06.02.2015 активность IX фактора свертывания – 4,3%. В общем и биохимическом анализе крови, общем анализе мочи, на электрокардиограмме, рентгенографии легких, ультразвуковом исследовании органов брюшной полости и забрюшинного пространства патологии не выявлено.

Учитывая деструктивный рост образования, в круг дифференциального диагноза входили как злокачественные процессы (остеогенная саркома, рабдомиосаркома, саркома Юинга), так и доброкачественные образования (аневризмальная костная киста, оссифицирующая фиброма, нейроэктодермальная меланотическая опухоль младенцев). Ребенок был обсужден на консилиуме в составе врачей – гематологов и хирургов, по результатам которого выработана тактика интра- и послеоперационного ведения в виде продленной инфузии и болюсных введений препарата IX фактора свертывания с тщательным лабораторным мониторингом.

Перед проведением вмешательства пациенту болюсно введено 1000 МЕ (100 МЕ/кг) концентрата человеческого фактора свертывания IX (Монолайн, CSL Behring LLC, США), в дальнейшем проводилась продленная инфузия препарата в дозе 80 МЕ/ч.

В условиях общей анестезии выполнен разрез кожи и подкожно-жировой клетчатки по скату носа, огибая крыло последнего, с переходом на красную кайму верхней губы и продлен по переходной складке

в полости рта справа. При помощи распатора выделена узурированная кортикальная пластинка кости верхней челюсти, размерами 3 × 4 см, удалена костными кусачками (рисунок 2).

Ниже располагается мягкотканное содержимое красно-серого цвета в псевдокапсуле. При выполнении интраоперационного гистологического исследования данных за наличие неопластического процесса не получено, было принято решение о проведении экскохлеации образования без резекции верхней челюсти. Мягкотканная часть образования легко отделялась от костной передней стенки верхнечелюстного синуса, удалена ложкой Фолькмана (рисунок 3). Гемостаз при помощи биполярного

Рисунок 2
Операционное поле. Этап операции

Figure 2
The surgical site. Treatment stage: surgery

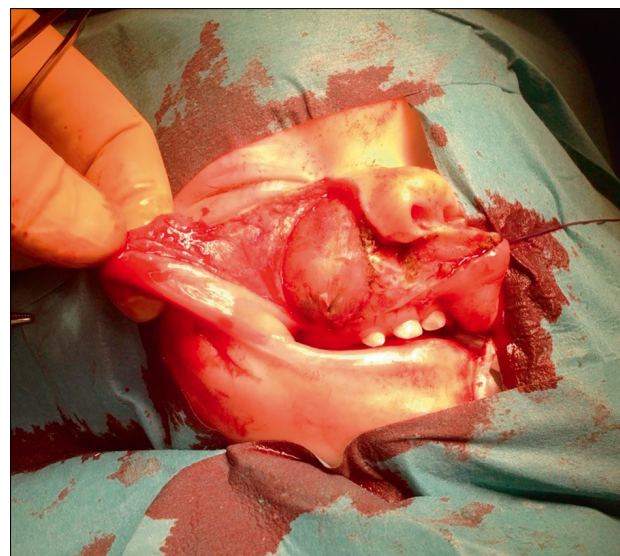
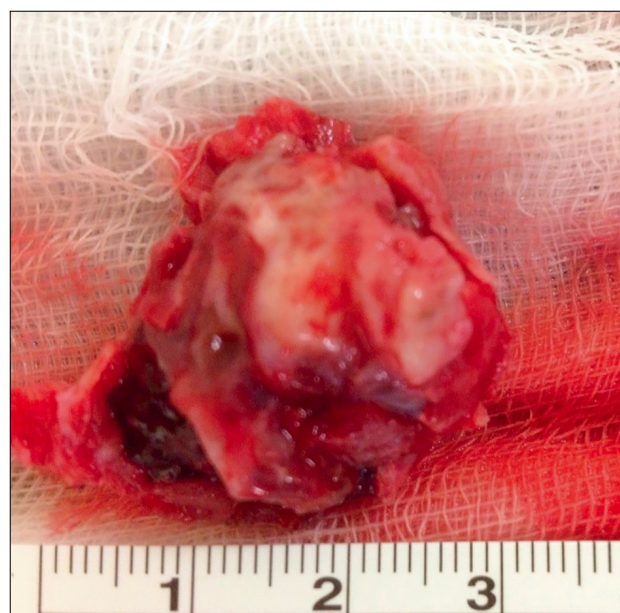


Рисунок 3
Мягкотканная часть образования

Figure 3
A soft-tissue part of the mass



коагулятора. Кровоточивость умеренная, кровопотеря около 40 мл.

На фоне проводимой заместительной терапии во время операции был достигнут стабильный местный гемостаз. Через 1 ч после болюсного введения активность IX фактора в крови составила 90%, а через 4 ч – 130%. В послеоперационном периоде в условиях стационара кратковременного лечения Центра им. Дмитрия Рогачева в течение 5 сут ребенок получал продленную инфузию препарата IX фактора свертывания в дозе 50–60 МЕ/ч. На этом фоне активность фактора в крови составила 60–70%. При снижении активности фактора до 43% на 6-е послеоперационные сутки проявлений геморрагического синдрома не отмечалось и от проведения суточной продленной инфузии решено отказаться. В дальнейшем коррекция дефицита IX фактора проводилась болюсным введением 600 МЕ препарата IX фактора свертывания. На 10-е сутки были сняты швы.

По данным гистологического заключения в доставленном материале определяются фрагменты губчатой кости с прилегающими мягкими тканями с обширным дефектом. Дефект заполнен лизированной кровью с перифокальными отложениями гемосидерина и скоплениями гемосидерофагов и гистиоцитов. Вокруг отмечается пролиферация волокнистой соединительной ткани с неравномерной воспалительной инфильтрацией смешанного характера с участками грануляционной ткани. Заключение: организуемая гематома.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами представлено описание случая предоперационного дообследования, оперативного лечения

ПО в области верхней челюсти у годовалого ребенка при гемофилии и послеоперационного ведения в условиях стационара кратковременного лечения. Стоит отметить, что ПО у мальчика явилось первым проявлением основного заболевания. Проведение инвазивных вмешательств без специфической заместительной терапии при коагулопатии сопровождается высоким риском жизнеугрожающих кровотечений. Эффективность и безопасность хирургического вмешательства у пациента была обеспечена применением продленной инфузии концентрата человеческого фактора свертывания IX. Данный случай наглядно иллюстрирует необходимость междисциплинарного подхода при лечении солидных образований в области головы и шеи, проведения мониторинга показателей гемостаза у пациентов детского возраста, а также успешное ведение больного в стационаре кратковременного лечения с длительностью госпитализации 8 сут.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Kalinina M.P. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6839-3918>

Pshonkin A.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2057-2036>

Grachev N.S. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4451-3233>

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

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

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

Литература

1. Starker L. Knochenusur durch ein hamophilic, subperiostales Hamatom. Mitt Grenzgeb Med Chir 1918; 31: 381–415.
2. Ahlberg A.K. On the natural history of hemophilic pseudotumor. J Bone Joint Surg Am 1975; 57 (8): 1133–6.
3. Gilbert M.S. Characterizing the hemophilic pseudotumor. Ann NY Acad Sci 1975; 240: 311–5.
4. Rodriguez-Merchan E.C. The haemophilic pseudotumour. Haemophilia 2002; 8 (1): 12–6.
5. Correr A., Buckley J., Roser S., Schreiber A., Syrop S. Radiotherapy of a pseudotumor in a hemophiliac with Factor VIII inhibitor. Am J Pediatr Hematol Oncol 1984; 6 (3): 325–7.
6. Cox D.P., Solar A., Huang J., Chigurupati R. Pseudotumor of the mandible as first presentation of hemophilia in a 2-year-old male: a case report and review of jaw pseudotumors of haemophilia. Head and Neck Pathol 2011; 5: 226–32.
7. Rodriguez-Merchan E.C., Gomez-Carnero P. Pathological fracture of a true tumour mimicking a haemophilic pseudotumor. Haemophilia 2005; 11 (2): 188–90.

Резолюция Совета экспертов «Препараты фактора свертывания VIII с пролонгированным периодом полувыведения (FVIII EHL) и их роль в дальнейшем улучшении результатов терапии пациентов с гемофилией А»

18 ноября 2020 г. Совет экспертов обсудил ряд вопросов, касающихся применения новых препаратов фактора свертывания крови VIII с пролонгированным периодом полувыведения. В частности, были рассмотрены результаты клинических исследований эффективности и безопасности применения препарата руриоктоког альфа пэгол у пациентов с гемофилией А.

В совещании приняли участие следующие эксперты:

Андреева Татьяна Андреевна, канд. мед. наук, врач-гематолог, руководитель Городского центра по лечению больных гемофилией СПб ГБУЗ «Городская поликлиника №37» (Санкт-Петербург)

Бабаева Татьяна Николаевна, канд. мед. наук, врач-гематолог, ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии (ФПК и ППВ) ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск)

Давыдкин Игорь Леонидович, д-р мед. наук, профессор, проректор по научной работе ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующий кафедрой госпитальной терапии с курсом трансфузиологии, директор На-

учно-исследовательского института гематологии, трансфузиологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России (Самара)

Жарков Павел Александрович, д-р мед. наук, врач-гематолог, руководитель группы изучения гемостаза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва)

Зозуля Надежда Ивановна, д-р мед. наук, врач-гематолог, руководитель отдела коагулопатий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (Москва)

Лаврентьева Инна Николаевна, врач-гематолог, заведующая отделе-

нием гематологии ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы» (Москва)

Перина Фарида Галимовна, врач-гематолог ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница» (Екатеринбург)

Петров Виктор Юрьевич, д-р мед. наук, врач-гематолог отделения гематологии ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы» (Москва)

Свирин Павел Вячеславович, врач-гематолог отделения гематологии ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы» (Москва)

На сегодняшний день профилактическая терапия препаратами фактора свертывания крови VIII (FVIII) является стандартом лечения пациентов с тяжелой формой гемофилии А [1]. Период полувыведения стандартных препаратов FVIII (rFVIII SHL) составляет приблизительно 10–14 ч [2–5]. Таким образом, существующие профилактические режимы предполагают введение препарата каждые 2 или 3 дня, учитывая индивидуальный фармакокинетический профиль [6].

В целом препараты FVIII с пролонгированным периодом полувыведения (EHL) позволяют пациентам снизить частоту введений в сравнении с препаратами со стандартным периодом полувыведения ($T_{1/2}$), сохраняя при этом схожую эффективность, либо увеличить уровень остаточной активности фактора при сохранении частоты введения [1].

В рамках Совета экспертов были рассмотрены руководства и обзоры международных профессиональных сообществ по лечению гемофилии. В частности, эксперты обсудили критерии принадлежности препаратов FVIII к классу препаратов EHL. Было выделено 3 ключевых критерия, которые позволяют отнести препарат FVIII к классу препаратов EHL [7]:

1. Применение технологии, обеспечивающей более длительный период полувыведения.

2. Отсутствие биоэквивалентности при сравнении с rFVIII со стандартным периодом полувыведения по показателю AUC (площадь под кривой «концентрация–время») (90–125% доверительный интервал).

3. Соотношение значений периода полувыведения rFVIII EHL к rFVIII SHL, равное 1,3 или выше, основываясь на моделировании.

Одним из рассмотренных препаратов является руриоктоког альфа пэгол – пегилированный рекомбинантный полноцепочечный FVIII EHL [8]. Пегилирование является хорошо изученным методом для увеличения периода полувыведения терапевтических белковых препаратов [9]. Несмотря на модификацию молекулы, для определения активности FVIII по-прежнему могут применяться существующие одностадийные или хромогенные методы [10].

Фармакокинетика, эффективность и безопасность препарата руриоктоког альфа пэгол для профилактики кровотечений у взрослых и детей с гемофилией А были оценены в нескольких международных клинических исследованиях [11–14].

В международном исследовании II/III фазы PROLONG-ATE при применении препарата руриоктоког альфа пэгол было продемонстрировано увеличение периода полувыведения в 1,4 раза (одностадийный

метод) и в 1,5 раза (хромогенный метод) в сравнении с препаратом со стандартным периодом полувыведения (октоког альфа). Также площадь под кривой (AUC) увеличилась в 1,9 раза [13].

В международном клиническом исследовании в педиатрической популяции у ранее леченных детей младше 12 лет профилактическое применение препарата руриоктоког альфа пэгол в стандартном режиме дозирования (2 раза в неделю) позволило достичь отсутствия спонтанных кровотечений у 67% пациентов, а отсутствия спонтанных гемартрозов – у 73% больных. Медиана годовой частоты кровотечений составила: 2,0 – всех кровотечений, 0 – спонтанных, 0 – в суставы [14].

В международном исследовании III фазы CONTINUATION была продемонстрирована возможность применения препарата руриоктоког альфа пэгол как в стандартном режиме 2 раза в неделю, так и с удлиненными интервалами введения – 1 раз в 5 или 7 дней. В исследовании приняли участие взрослые и дети в возрасте старше 1 года с тяжелой формой гемофилии А, ранее получавшие лечение. Средняя годовая частота всех кровотечений составила 2,1, спонтанных – 1,3 при применении каждые 5 дней и соответственно 2,7 и 1,8 – при применении каждые 7 дней [11].

Важной темой для обсуждения явился вопрос о повышении целевых уровней остаточной активности FVIII. В соответствии с недавно принятой обновленной версией Рекомендаций Всемирной федерации гемофилии, большинство врачей предпочитают ставить целью достижение более высоких уровней остаточной активности – 3–5%, а не 1%, ранее считавшийся адекватной целью [1]. Последние исследования, в частности, международное исследование III фазы PROPEL,

продемонстрировали, что более высокие уровни позволяют достичь меньшего числа кровотечений [12]. В исследовании PROPEL изучались эффективность и безопасность индивидуализированной профилактики препаратом руриоктоког альфа пэгол в двух группах пациентов с разными целевыми уровнями остаточной активности – 1–3% и 8–12%, которые были рассчитаны с помощью приложения myPKFiT. Доля пациентов с отсутствием спонтанных гемартрозов составила 65% и 85% пациентов в группах 1–3% и 8–12% соответственно, а по показателю всех кровотечений – 42% и 62% соответственно [12].

В Рекомендациях Британской организации врачей центров по лечению гемофилии (UKHCDO) отмечено, что применение препаратов FVIII EHL должно основываться на индивидуальных параметрах фармакокинетики FVIII.

По результатам обсуждения Совет экспертов принял следующие решения:

1. Признать, что применение препаратов FVIII EHL является одним из вариантов оптимизации заместительной терапии у детей и взрослых с неосложненной ингибитором гемофилией А.

2. Признать целесообразным применение этих препаратов у пациентов с недостаточным клиническим эффектом от использования препаратов фактора FVIII со стандартным периодом полувыведения или объективно нуждающихся в снижении частоты введений и/или повышении уровня остаточной активности FVIII.

3. Опубликовать резолюцию Совета экспертов в журнале «Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии».

Резолюция принята единогласно.

Литература

1. Srivastava A., Santagostino E., Dougall A., Kitchen S., Sutherland M., Pipe S.W., et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia* 2020; 26 Suppl 6: 1–158. DOI: 10.1111/hae.14046
2. Bjorkman S. Prophylactic dosing of factor VIII and factor IX from a clinical pharmacokinetic perspective. *Haemophilia* 2003; 9 Suppl 1: 101–8; discussion 9–10.
3. Bjorkman S., Berntorp E. Pharmacokinetics of coagulation factors: clinical relevance for patients with haemophilia. *Clin Pharmacokinet* 2001; 40 (11): 815–32. DOI: 10.2165/00003088-200140110-00003
4. Bjorkman S., Folkesson A., Jonsson S. Pharmacokinetics and dose requirements of factor VIII over the age range 3–74 years: a population analysis based on 50 patients with long-term prophylactic treatment for haemophilia A. *Eur J Clin Pharmacol* 2009; 65 (10): 989–98. DOI: 10.1007/s00228-009-0676-x
5. Manco-Johnson M.J., Ashbire T.C., Shapiro A.D., Riske B., Hacker M.R., Killoyn R., et al. Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. *N Engl J Med* 2007; 357 (6): 535–44. DOI: 10.1056/NEJMoa067659
6. Valentino L.A., Mamonov V., Hellmann A., Quon D.V., Chybicka A., Schroth P., et al. A randomized comparison of two prophylaxis regimens and a paired comparison of on-demand and prophylaxis treatments in hemophilia A management. *J Thromb Haemost* 2012; 10 (3): 359–67. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2011.04611.x
7. Mahlangu J., Young G., Hermans C., Blanchette V., Berntorp E., Santagostino E. Defining extended half-life rFVIII-A critical review of the evidence. *Haemophilia* 2018; 24 (3): 348–58. DOI: 10.1111/hae.13438
8. Turecek P.L., Bossard M.J., Graninger M., Gritsch H., Höllriegel W., Kalwoda M., et al. BAX 855, PEGylated rFVIII product with prolonged half-life. Development, functional and structural characterisation. *Haemostaseologie* 2012; 32 Suppl 1: S29–38.
9. Harris J.M., Chess R.B. Effect of pegylation on pharmaceuticals. *Nat Rev Drug Discov* 2003; 2 (3): 214–21. DOI: 10.1038/nrd1033
10. Turecek P.L., Romeder-Finger S., Apostol C., Bauer A., Crocker-Buqué A., Burger D.A., et al. A world-wide survey and field study in clinical haemostasis laboratories to evaluate FVIII:C activity assay variability of ADYNOVATE and OBIZUR in comparison with ADVATE. *Haemophilia* 2016; 22 (6): 957–65. DOI: 10.1111/hae.13001
11. Chowdary P., Mullins E.S., Konkle B.A., McGuinn C., Park Y.S., Stasyshyn O., et al. Long-term safety and efficacy results from the phase 3b, open-label, multicentre Continuation study of ruriococog alfa pegol for prophylaxis in previously treated patients with severe haemophilia A. *Haemophilia* 2020; 26: e168–78. DOI: 10.1111/hae.14052
12. Klamroth R., Windyga J., Radulescu V., Collins P.W., Stasyshyn O., Ibrahim H.M., et al. Ruriococog alfa pegol PK-guided prophylaxis in hemophilia A: Results from the phase 3 PROPEL study. *Blood* 2020. DOI: 10.1182/blood.2020005673
13. Konkle B.A., Stasyshyn O., Chowdary P., Bevan D.H., Mant T., Shima M., et al. Pegylated, full-length, recombinant factor VIII for prophylactic and on-demand treatment of severe hemophilia A. *Blood* 2015; 126 (9): 1078–85. DOI: 10.1182/blood-2015-03-630897
14. Mullins E.S., Stasyshyn O., Alvarez-Roman M.T., Osman D., Liesner R., Engl W., et al. Extended half-life pegylated, full-length recombinant factor VIII for prophylaxis in children with severe haemophilia A. *Haemophilia* 2017; 23 (2): 238–46. DOI: 10.1111/hae.13119

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 23.01.2021
Принята к печати 15.02.2021

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-162-167

Редкий случай нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием, развившейся через 5 лет после успешного лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы

М.А. Сенченко, Д.С. Абрамов, А.Е. Руднева, Е.В. Волчков, Г.А. Насирдинова,
Д.А. Гобадзе, Н.В. Мякова, Д.М. Коновалов

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

Контактная информация:
Абрамов Дмитрий Сергеевич,
врач-патологоанатом
патологоанатомического отделения
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия
Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: dmitry.abramov@fccho-moscow.ru

Нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием (НЛХЛП) – В-клеточная лимфома, которая исторически отнесена в группу ходжкинских лимфом, несмотря на особенности клинического течения, лечения и прогноза, а также заметные морфологические, иммуногистохимические отличия от классической лимфомы Ходжкина. В 75% случаев заболевание выявляется на ранних стадиях (I–II по Ann Arbor), имеет индолентное течение и благоприятный прогноз с общей 10-летней выживаемостью > 80%. Несмотря на это, при длительном наблюдении и развитии частых рецидивов может возникать трансформация в диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (ДКБКЛ) или богатую Т-лимфоцитами/гистиоцитами ДКБКЛ, описаны единичные случаи у детей. В мировой литературе представлены единичные случаи развития НЛХЛП после лечения ДКБКЛ у взрослых, тогда как в детской популяции аналогичных случаев не описано. В данной статье представлен клинический случай ДКБКЛ у ребенка 10 лет, у которого через 5 лет после окончания лечения развилась НЛХЛП. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: лимфома Ходжкина, нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием, лимфомы у детей, лимфома

Сенченко М.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 162–167. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-162-167

A rare case of nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma, which developed 5 years after successful treatment of diffuse large B-cell lymphoma

M.A. Senchenko, D.S. Abramov, A.E. Rudneva, E.V. Volchkov, G.A. Nasirdinova, D.A. Gobadze, N.V. Myakova, D.M. Konovalov

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

Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma (NLHLP) – B-cell lymphoma, which has been historically added to the group of Hodgkin's lymphomas, despite the peculiarities of the clinical course, treatment and prognosis, as well as morphological and immunophenotypical differences. In 75% of cases, the disease is detected at early stages (I–II according to Ann Arbor classification), has an indolent course and a favorable prognosis with 10-years an overall survival rate, more than 80%. Despite this, with long-term follow-up and the development of frequent relapses, transformation into diffuse large-cell B-cell lymphoma (DLBCL) or T-lymphocyte/histiocyte-rich DLBCL can occur, isolated cases in children. In the world literature, there are isolated cases of the development of NLHLP after treatment of DLBCL in adults, while among the pediatric population, cases have not been described. This article presents a clinical case of DLBCL in a 10-year-old child who, 5 years after the end of treatment, developed nodular Hodgkin's lymphoma with lymphocytic predominance. The patient's parents agreed to use the information, including the child's photo, in scientific research and publications.

Key words: Hodgkin's lymphoma, nodular lymphocytic-predominant Hodgkin's lymphoma, childhood lymphomas, lymphoma

Senchenko M.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 162–167.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-162-167

Нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием (НЛХЛП) – В-клеточная лимфома, которая исторически отнесена в группу ходжкинских лимфом, несмотря на особенности клинического течения, лечения и прогноза, а также заметные морфологические, иммуногистохимические отличия от классиче-

ской лимфомы Ходжкина [1]. В 75% случаев заболевание выявляется на ранних стадиях (I–II по Ann Arbor), имеет индолентное течение и благоприятный прогноз с общей 10-летней выживаемостью > 80% [2]. Несмотря на это, при длительном наблюдении и развитии частых рецидивов может возникнуть трансформация в диффузную крупноклеточную

В-клеточную лимфому (ДКБКЛ) или богатую Т-лимфоцитами/гистиоцитами ДКБКЛ [3, 4], описаны единичные случаи у детей [5, 6]

В мировой литературе представлены единичные случаи развития НЛХЛП после лечения ДКБКЛ у взрослых [7, 8], тогда как среди детской популяции аналогичных случаев не описано.

В данной статье представлен клинический случай ДКБКЛ у ребенка 10 лет, у которого через 5 лет после окончания лечения развилась НЛХЛП.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фото ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Мальчик, 2002 года рождения, заболел остро в апреле 2013 г., когда возникло увеличение подмышечных лимфатических узлов (ЛУ) справа, появились симптомы интоксикации, сыпь на коже. В региональной клинике проведено обследование:

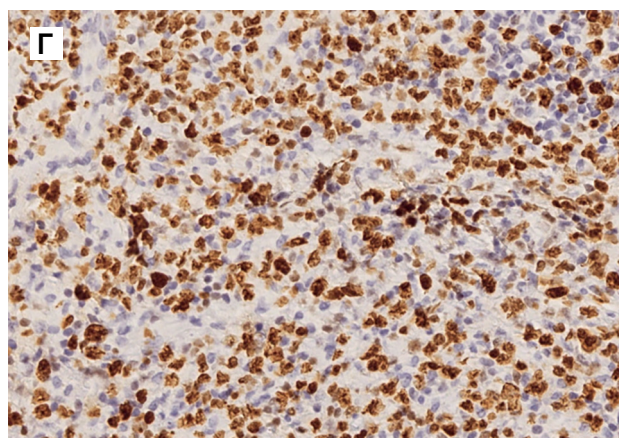
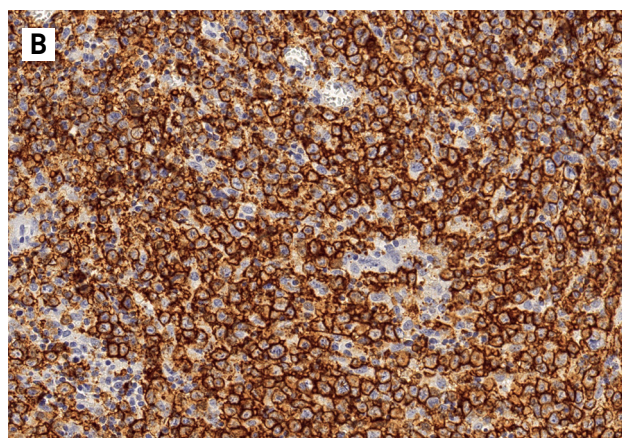
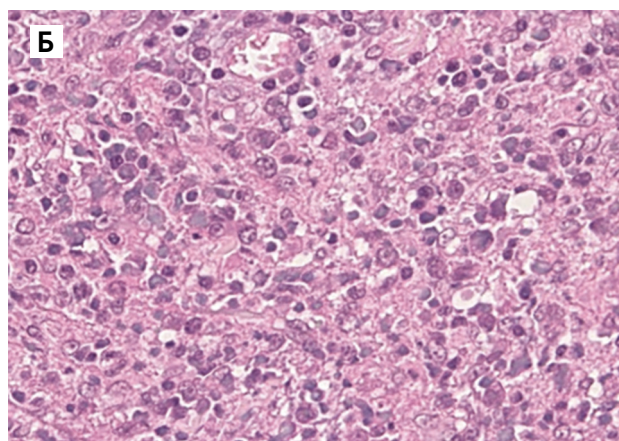
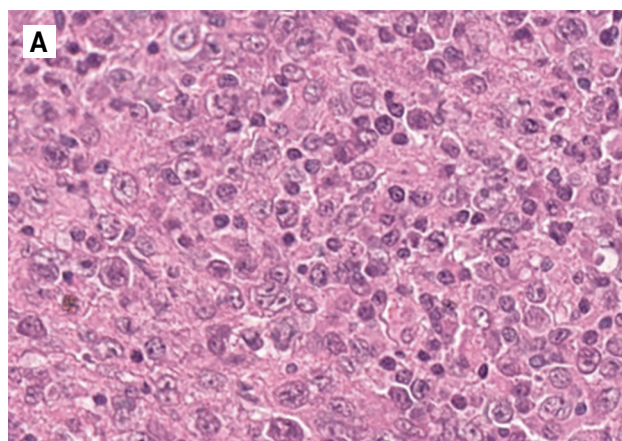
по данным ультразвукового исследования органов брюшной полости выявлено увеличение селезенки с множественными гипозоногенными образованиями в ее паренхиме; на компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки – увеличение аксиллярных ЛУ справа до 3,8 см с конгломератом до 6,2 × 3,7 см под малой грудной мышцей, увеличение забрюшинных ЛУ. Состояние расценивалось как острая крапивница с отеком Квинке, затяжное течение. Получал дексаметазон (по 16 мг/сут в течение 9 дней) и симптоматическую терапию. Отмечено уменьшение размеров ЛУ, но сохранялась интоксикация, потеря веса (около 20% за 6 мес). Через 5 мес, в октябре 2013 г., состояние в течение нескольких дней ухудшилось: появились симптомы интоксикации, боли в спине, требующие обезболивания, увеличение размеров ЛУ, асимметрия грудной клетки, фебрильная лихорадка, потливость, увеличение селезенки до + 10 см.

Ребенок был направлен в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в ноябре 2013 г. При обследовании выявлена гепатоспленомегалия, диффузно-оча-

Рисунок 1

Морфология и иммунофенотип опухолевого поражения: А – диффузный крупноклеточный инфильтрат, который представлен преимущественно клетками с морфологией центробластов (окраска гематоксилином и эозином, × 400); Б – фокально отмечается более дискретное расположение крупных клеток (окраска гематоксилином и эозином, × 400); В – клетки тотально позитивны к анти-CD20 (иммуногистохимическое (ИГХ) исследование, × 400); Г – высокий уровень экспрессии Ki-67 – до 70% (ИГХ, × 400)

Figure 1
Morphology and immunophenotype of the tumor: A – diffuse, large cell infiltrate, represented by cells with centroblast morphology (HE, × 400); Б – discrete arrangement of large cells (HE, × 400); В – large cells totally express CD20 (IHC, × 400); Г – high expression of Ki-67, up to 70% (IHC, × 400)



говые изменения паренхимы селезенки, увеличение шейных, подмышечных ЛУ, больше справа, внутрибрюшных и забрюшинных ЛУ с формированием конгломерата; 11.11.2013 ребенку была проведена биопсия ЛУ под большой грудной мышцей.

При гистологическом исследовании выявлена тотально стертая гистоархитектоника вследствие диффузного распространения крупноклеточного инфильтрата, который представлен преимущественно клетками с цитологическими признаками центробластов (рисунок 1А): клетки имеют умеренное количество амфифильной цитоплазмы с нечеткими границами, округлое везикулярное ядро со светлым хроматином, мелкими эозинофильными ядрышками. Клетки формируют сливающиеся пласты, фокально отмечается более дискретное расположение (рисунок 1Б), встречаются мелкоочаговые, единичные некрозы. Реактивный инфильтрат представлен преимущественно мелкими лимфоцитами, встречаются гистиоциты, единичные сегментоядерные гранулоциты.

При ИГХ-исследовании крупноклеточный инфильтрат представлен CD20-позитивными В-лимфоцитами (рисунок 1В), фокально клетки распола-

гаются более дискретно (рисунок 2А). Отмечается коэкспрессия BCL6, OCT2 (рисунок 2Б, В), фокальная коэкспрессия BCL2, отдельные клетки коэкспрессируют EMA (рисунок 2Г).

Отсутствует экспрессия опухолевыми элементами CD22, BOB-1 при позитивном внутреннем контроле – мелкие В-лимфоциты. Уровень экспрессии Ki-67 высокий, до 70% (рисунок 1Г). Отсутствует экспрессия CD10, CD23, ALK, CD30, Fascin, GLUT-1. При проведении неиммуофлуоресцентной гибридизации *in situ* с зондом EBER отмечается негативная реакция.

На основании проведенного обследования у ребенка диагностирована ДКБКЛ с поражением шейных, подмышечных, внутригрудных, внутрибрюшных, паховых ЛУ, селезенки, костей, с инфильтрацией поясничных мышц, IV стадия.

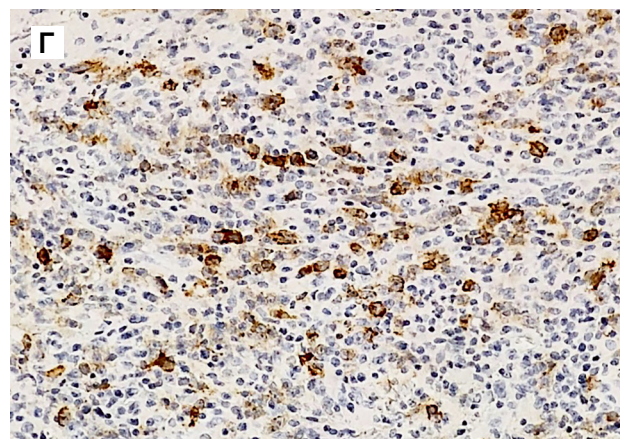
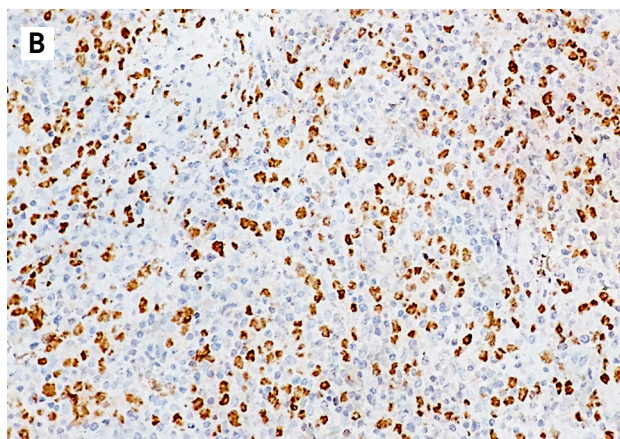
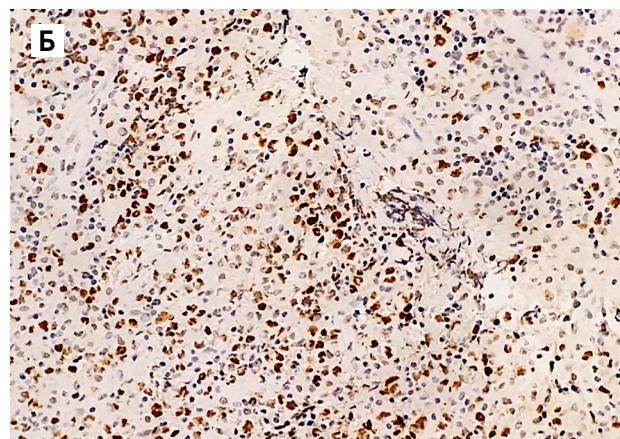
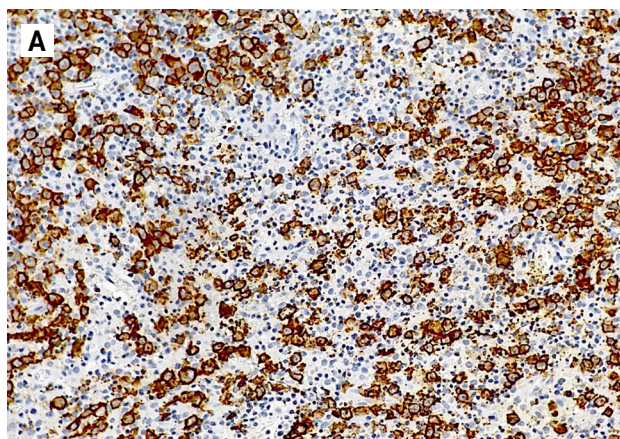
С 14.11.2013 ребенок получал лечение по протоколу В-NHL-2010 М, 3-я группа риска (таблица). Ремиссия зарегистрирована по данным мультиспиральной КТ шеи, органов грудной клетки, брюшной полости и позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с КТ (ПЭТ/КТ), всего тела с глюкозой после 6 блоков полихимиотерапии.

Рисунок 2

Иммунофенотип клеток опухоли. Крупные, дискретно расположенные, CD20-позитивные В-лимфоциты (А; ИГХ, × 200), с коэкспрессией BCL6 (Б; ИГХ, × 200), OCT-2 (В; ИГХ, × 200), EMA (Г; ИГХ, × 200)

Figure 2

The immunophenotype of tumor cells. Large, CD20-positive cells forming small islets (A; IHC, × 200), coexpression of BCL6 (Б; IHC, × 200), OCT-2 (В; IHC, × 200), EMA (Г; IHC, × 200)



Таблица

Терапия пациента по протоколу B-NHL-2010 M, 3-я группа риска

Table

Treatment of the patient according to the B-NHL-2010 M protocol, risk group 3

Проводимая терапия Administered treatment	Реакция и лечение осложнений Reaction and treatment of complications
Циторедукция: дексаметазон 5 мг/м ² , циклофосфан 200 мг/м ² , дни 1–2, дексаметазон 10 мг/м ² Cytoreduction: dexamethasone 5 mg/m ² , Cyclophosphan 200 mg/m ² , days 1–2, dexamethasone 10 mg/m ²	Не было No
Мабтера №1 – 375 мг/м ² Mabthera №1 – 375 mg/m ²	Не было No
Блок AA (1) Block AA (1)	Мукозит III степени, дерматит, энтероколит. Получал комбинированную противомикробную терапию – тазоцин, ванкомицин, амикацин, дорипрекс, кансидас, трихопол, зовиракс, с положительной динамикой. По болевому синдрому – трамал Mucositis grade III, dermatitis, enterocolitis. The patient improved on combined antimicrobial therapy (Tazocin, vancomycin, amikacin, Doriprex, Cancidas, Trichopol, Zovirax). Tramal was given for pain syndrome
Мабтера №2 – 375 мг/м ² Mabthera №2 – 375 mg/m ²	Не было No
Блок BB (2) Block BB (2)	На фоне стандартной сопроводительной терапии перенес удовлетворительно The treatment was well tolerated along with standard accompanying therapy
Мабтера №3 – 375 мг/м ² Mabthera №3 – 375 mg/m ²	Не было No
Мабтера №4 – 375 мг/м ² Mabthera №4 – 375 mg/m ²	Не было No
По результатам проведенного контрольного обследования (ультразвуковое исследование периферических ЛУ, мультиспиральная КТ шеи, органов грудной клетки, брюшной полости) у мальчика отмечалось наличие остаточной опухоли A follow-up investigation (US of the peripheral lymph nodes, multispiral computed tomography of the neck, thorax, abdominal cavity) revealed a residual tumor	
Проведен блок CC (3) Block CC (3) was carried out	На фоне стандартной сопроводительной терапии перенес удовлетворительно The treatment was well tolerated along with standard accompanying therapy
Проведен блок AA (4) Block AA (4) was carried out	Мукозит, хейлит, энтероколит Mucositis, cheilitis, enterocolitis
Проведен блок CC (5) Block CC (5) was carried out	На фоне стандартной сопроводительной терапии перенес удовлетворительно The treatment was well tolerated along with standard accompanying therapy
Проведен аферез периферических стволовых клеток крови Peripheral blood stem cells apheresis was carried out	Не было No
Проведен блок B3 (6) Block B3 (6) was carried out	Не было No
На основании проведенного обследования (мультиспиральная КТ шеи, органов грудной клетки, брюшной полости, ПЭТ/КТ всего тела) констатирована полная ремиссия по основному заболеванию Based on the results of the performed investigation (multispiral computed tomography of the neck, thoracic and abdominal cavity, whole-body positron emission tomography combined with computed tomography), the patient achieved complete remission of the underlying disease	

По окончании терапии ребенок регулярно наблюдался гематологом НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Состояние соматически оставалось стабильным, отмечалась тромбоцитопения до минимальных показателей 65 тыс/мкл.

В июле 2019 г. при плановой консультации выявлено увеличение паховых ЛУ: по данным КТ максимально до 11 × 17 × 70 слева, до 20 × 10 × 43 мм справа.

Проведена ПЭТ/КТ тела с фтордезоксиглюкозой: определялось накопление радиофармпрепарата (РФП) в ЛУ шеи группы IIA с 2 сторон ($SUV_{max} = 3,9$), размерами до 11 × 17 мм и в единичных мелких ЛУ шеи III группы с 2 сторон ($SUV_{max} = 1,8$), в подмышечных ЛУ справа ($SUV_{max} = 4,5$) размерами до 14 × 24 мм и слева ($SUV_{max} = 1,1$) размерами до 9 × 17 мм. Накопление РФП в немногочисленных наружных подвздошных ЛУ с 2 сторон ($SUV_{max} = 2,9$)

размерами до 12 × 21 мм, во множественных паховых ЛУ справа ($SUV_{max} = 2,9$) размерами до 13 × 24 мм и слева ($SUV_{max} = 6,2$) размерами до 16 × 26 мм.

Проведена эксцизионная биопсия пахового ЛУ. При гистологическом исследовании (рисунки 3) выявлено стирание нормальной гистоархитектоники ЛУ, определяется нодулярный паттерн роста клеточного инфильтрата (рисунки 3А), нодулы выполнены мелкими лимфоцитами, среди которых просматриваются немногочисленные, дискретно расположенные крупные клетки с умеренным количеством эозинофильной/амфифильной цитоплазмы и крупным округлым или неправильной формы лобулированным ядром с мелкозернистым хроматином и мелкими эозинофильными ядрышками. Узкие паранодулярные зоны представлены мелкими лимфоцитами, среди которых просматриваются единичные гистиоциты и эпителиоидные клетки.

При ИГХ-исследовании нодулы состоят преимущественно из мелких, реактивных CD20/CD79a-позитивных В-лимфоцитов (рисунк 3Б), паранодулярные зоны представлены мелкими CD3-позитивными Т-клетками. Крупные атипичные элементы экспрессируют CD20/CD79a/BOB1/OCT2/BCL6, определяются внутри нодул среди мелких CD20/CD79a-позитивных В-лимфоцитов нодулярных структур, часть окружена CD3/PD1-позитивными Т-лимфоцитами (римминг). Отсутствует экспрессия CD30, CD15, EMA.

На основании проведенного обследования диагностирована НЛХЛП, паттерн А, стадия IIIA, с поражением ЛУ шеи с 2 сторон, подмышечных ЛУ справа, паховых ЛУ с 2 сторон.

В соответствии с рекомендациями протокола EuroNet-PHL-LP [9] проведено 4 курса по схеме R-CVP (ритуксимаб 500 мг/м² в день 0, преднизолон 40 мг/кг/сут *per os* в дни 1–7, циклофосфан 500 мг/м² в день 1; винбластин 9 мг внутривенно, струйно в дни 1, 8).

По окончании терапии (ноябрь 2019 г.) по данным ПЭТ/КТ всего тела очагов патологического накопления РФП не выявлено. Констатирована полная метаболическая ремиссия НЛХЛП.

Пациент обследован через 3 мес после окончания терапии, признаков рецидива не выявлялось.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящей статье представлен интересный, редкий случай ДКБКЛ, ассоциированной с НЛХЛП. В литературе описаны единичные случаи среди взрослого населения. Так, в исследовании Fan и соавт. представлены 2 случая богатой Т-лимфоцитами/гистиоцитами ДКБКЛ и 1 случай ДКБКЛ, которые предшествовали НЛХЛП [8], в исследовании Rudiger и соавт. описан 1 случай богатой Т-лимфоцитами/

гистиоцитами ДКБКЛ с развитием НЛХЛП спустя 8 лет после терапии [9].

В 2003 г. группой исследователей под руководством Fan были выделены 6 иммуноархитектурных паттернов НЛХЛП, 1 из которых (паттерн Е) имеет идентичный морфологический вид, что и богатая Т-лимфоцитами/гистиоцитами ДКБКЛ [8], в такой ситуации дифференциальная диагностика этих заболеваний крайне затруднительна, учитывая единое В-клеточное происхождение из герминативных центров, идентичный иммунофенотип опухолевых клеток и схожую экспрессию генов. На сегодняшний день вопрос о взаимосвязи богатой Т-лимфоцитами/гистиоцитами ДКБКЛ и НЛХЛП остается открытым. Таким образом, существует вероятность, что описанные в литературе случаи перехода богатой Т-лимфоцитами/гистиоцитами ДКБКЛ в НЛХЛП представляют собой рецидивирующую НЛХЛП со сменой паттерна. Учитывая это, можно предположить, что на момент написания статьи представлен только 1 случай развития НЛХЛП у пациента с предшествующей ДКБКЛ [8].

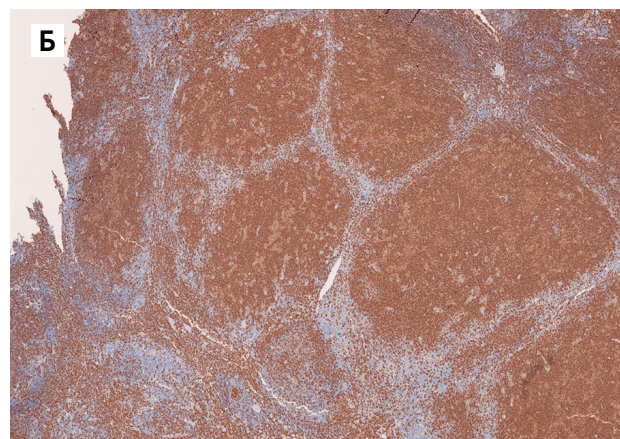
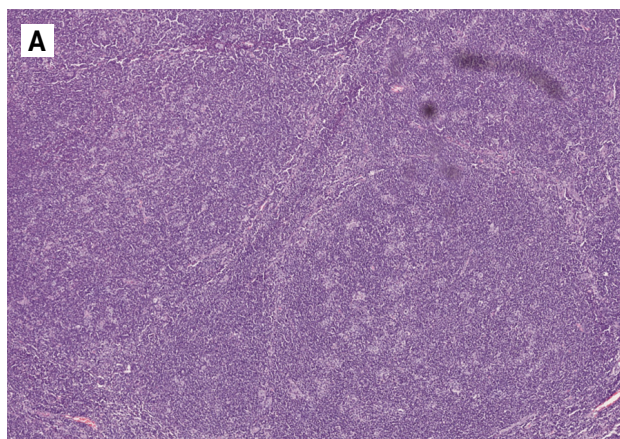
Следует отметить необычность иммунофенотипа первичной опухоли, а именно экспрессию неопластическими клетками антигена ЕМА и фокальное дискретное расположение опухолевых В-лимфоцитов, что не является типичным для неспецифицированной ДКБКЛ. Также, учитывая данные анамнеза о времени постановки диагноза, составившего более 6 мес, не исключает развитие ДКБКЛ из предсуществующей лимфомы Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием, доказать данные предположения не представляется возможным. Однако нам было доступно проведение молекулярно-генетического исследования в целях возможного выявления общего клона первичной опухоли и материала НЛХЛП.

Рисунок 3

Морфологическая картина ткани ЛУ повторной биопсии: А – нодулярный паттерн роста клеточного инфильтрата (окраска гематоксилином и эозином, × 200); Б – нодулы состоят из мелких, реактивных CD20-позитивных В-лимфоцитов (ИГХ, × 200)

Figure 3

A – nodular pattern of growth (HE, × 200); Б – nodular structures consist of small CD20-positive B-lymphocytes (IHC, × 200)



При проведении молекулярно-генетического исследования первичной опухоли и материала НЛХЛП клональной идентичности опухолевых клеток выявлено не было, что можно объяснить как малым количеством опухолевых клеток в НЛХЛП, так и возможным появлением соматических гипермутаций в CDR3 (complementarity-determining regions), описанных ранее при зрелоклеточных лимфомах [10, 11]. Отсутствие общего клона также может быть результатом возникновения НЛХЛП из малой субпопуляции, которая могла отсутствовать в первичном материале ДКБКЛ. Не исключается также, что НЛХЛП является *de novo* возникшим заболеванием, т. е. второй опухолью, что может быть последствием проведенной агрессивной химиотерапии с применением цитотоксических и алкилирующих препаратов. Однако наиболее ожидаемым исходом при применении ДНК-повреждающих препаратов является развитие острого миелоидного лейкоза или миелодиспластического синдрома [12, 13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, особенностью представленного случая является развитие индолентной В-клеточной лимфомы у пациента с агрессивной В-клеточной лимфомой в анамнезе после перенесенной агрессивной химиотерапии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Senchenko M.A. ORCID <https://orcid.org/0000-0002-9921-5620>

Abramov D.S. ORCID <http://orcid.org/0000-0003-3664-2876>

Nasirdinova G.A. ORCID <https://orcid.org/0000-0002-4978-0496>

Volchikov E.V. ORCID <https://orcid.org/0000-0002-2574-1636>

Kononov D.M. ORCID <https://orcid.org/0000-0001-7732-8184>

Myakova N.V. ORCID <http://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

Литература

1. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. World Health Organization classification of haematopoietic and lymphoid issues. Lyon: IARC Press; 2017. Pp. 323–5.
2. Nogová L., Reineke T., Brillant C., Sieniawski M., Rüdiger T., Josting A., et al.; German Hodgkin Study Group. Lymphocyte-predominant and classical Hodgkin's lymphoma: a comprehensive analysis from the German Hodgkin Study Group. J Clin Oncol 2008; 26 (3): 434–9. DOI: 10.1200/JCO.2007.11.8869
3. Xing K.H., Connors J.M., Mansour M.A., Gascoyne R.D. The outcome of advanced stage nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma (NLPHL) compared to classical Hodgkin lymphoma (CHL): a matched pair analysis. ASH Annual Meeting 2012 (abstract 1531)
4. Biasoli I., Stamatoullas A., Meignin V., Delmer A., Reman O., Brice P., et al. Nodular, lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma: a long-term study and analysis of transformation to diffuse large B-cell lymphoma in a cohort of 164 patients from the Adult Lymphoma Study Group. Cancer 2010; 116 (3): 631–9. DOI: 10.1002/cncr.24819
5. Mauz-Körholz C., Gorde-Grosjean S., Hasenclever D., Shankar A., Dörffel W., Wallace W.H., et al. Resection alone in 58 children with limited stage, lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma-experience from the European network group on pediatric Hodgkin lymphoma. Cancer 2007; 110 (1): 179–85.
6. Couronné L., Schneider P., Picquenot J.M., Laberge S., Bastard C., Vanier J.P. Refractory nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma transformed to T-cell/histiocyte-rich B-cell lymphoma in an adolescent: salvage therapy with allogeneic bone marrow transplantation. J Pediatr Hematol Oncol 2008; 30 (12): 959–62. DOI: 10.1097/MPH.0b013e31818a9564
7. Fan Z., Natkunam Y., Bair E., Tibshirani R., Warnke R.A. Characterization of variant patterns of nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma with immunohistologic and clinical correlation. Am J Surg Pathol 2003; 27 (10): 1346–56. DOI: 10.1097/PAS.0b013e318165b0d6
8. Rudiger T., Gascoyne R.D., Jaffe E.S., de Jong D., Delabie J., Müller-Hermelink H.K., et al. Workshop on the relationship between nodular lymphocyte predominant Hodgkin's lymphoma and T cell/histiocyte-rich B cell lymphoma. Ann Oncol 2002; 13 Suppl 1: 44–51. DOI: 10.1093/annonc/13.s1.44
9. Mauz-Körholz C., Lange T., Hasenclever D., Burkhardt B., Feller A.C., Dörffel W., et al. Pediatric Nodular Lymphocyte-predominant Hodgkin Lymphoma: Treatment Recommendations of the GPOH-HD Study Group. Klin Padiatr 2015; 227 (6–7): 314–21. DOI: 10.1055/s-0035-1559664
10. Xu-Monette Z.Y., Li J., Xia Y., Crossley B., Bremel R.D., Miao Y., et al. Immunoglobulin somatic hypermutation has clinical impact in DLBCL and potential implications for immune check point blockade and neoantigen-based immunotherapies. J Immunother Cancer 2019; 7 (1): 272. DOI: 10.1186/s40425-019-0730-x
11. Dunn-Walters D., Thiede C., Alpen B., Spencer J. Somatic hypermutation and B-cell lymphoma. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 2001; 356 (1405): 73–82. DOI: 10.1098/rstb.2000.0751
12. Koh K.N., Yoo K.H., Im H.J., Sung K.W., Koo H.H., Kim H.S. et al. Characteristics and Outcomes of Second Malignant Neoplasms after Childhood Cancer Treatment: Multi-Center Retrospective Survey. J Korean Med Sci 2016; 31 (8): 1254–61. DOI: 10.3346/jkms.2016.31.8.1254
13. Fianchi L., Pagano L., Piciocchi A., Candoni A., Gaidano G., Breccia M., et al. Characteristics and outcome of therapy-related myeloid neoplasms: Report from the Italian network on secondary leukemias. Am J Hematol 2015; 90 (5): E80–5. DOI: 10.1002/ajh.23966

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-168-169

Case report of mesenteric lymphadenopathy in Gaucher disease: rare and benign complication

M. Khalili¹, M. Gholamzadeh Baies¹, M. Alaei²¹Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Iran, Tehran²Mofid Children's Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Iran, Tehran

Контактная информация:

Mehdi Gholamzadeh Baies,
Department of Radiology, Imam Hossein
Hospital, Shahid Beheshti University
of Medical Sciences, Iran, Tehran
E-mail: Dr.M.Gholamzadeh@Gmail.Com

A 10-year-old boy known case of Gaucher disease about 2 years ago was admitted with nausea, vomiting and epigastric pain from 3 days before hospitalization to Mofid Children's hospital, Tehran, Iran. On the initial examination, no abnormalities were found except for splenomegaly and brief tenderness on the spleen. In secondary paraclinical evaluations (with Ultrasound and Ct-scan), we noticed mesenteric lymphadenopathy in the patient. The lesions remained unchanged and no significant changes were observed in the clinical and laboratory evaluations of the patient during one-year follow-up period. This is a rare and benign manifestation of Gaucher disease, which is usually monitored and does not require any intervention without signs of malignancy or severe space occupying effects

Key word: mesenteric lymphadenopathy, Gaucher disease, pediatric patient

Khalili M., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 168–169.

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-168-169

Gaucher disease is a metabolic disorder due to a deficiency of the β -glucocerebrosidase enzyme, which leads to the glucocerebroside accumulation in tissue macrophages of liver, spleen, and bone marrow, lungs, kidneys and intestines. In this disease, fat accumulates in the lysosomes of macrophages and is not metabolized [1]. The main features of the disease are anemia, bone lesions, neurological disorders and hepatosplenomegaly. Moreover the disease is associated with rare complications, such as mesenteric lymphadenopathy, which only 26 cases have been reported worldwide [2]. In the present study we describes a pediatric patient with Gaucher disease, who had mesenteric lymphadenopathy as a rare and benign manifestation of Gaucher disease.

CASE REPORT

A 10-year-old boy known case of type1 Gaucher disease (homozygous c.1448T>C (p.L483P); Lyso-Gl-1 – 875.5 ng/ml (cut of value 0–4.0 ng/ml)) about 2 years ago has been under Enzyme Replacement Therapy (ERT). The treatment was received incompletely. He was admitted with nausea, vomiting and epigastric pain 3 days before hospitalization, to the Mofid Children's Hospital, Tehran, Iran. On the initial examination, no abnormalities were found except for splenomegaly and brief tenderness on the spleen. To complete the initial assessment for the patient, laboratory tests and ultrasound of the abdomen were performed, the findings included: WBC $5,7 \times 10^9/L$ (Neut 55%, Lym 37%), PLT $138 \times 10^9/L$, Hb 114 g/L, liver function test and amylase were in normal limit.

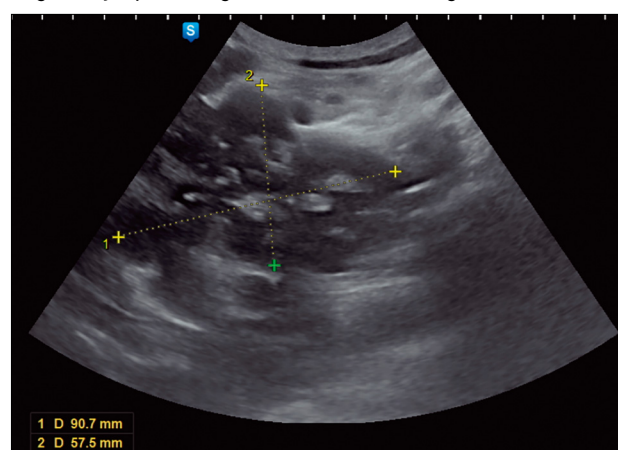
Evidence of lobulated large mesenteric mass measuring about 91×57 mm by ultrasound was depicted (figure 1).

For better assessment of the lesion, CT-scan of the abdomen and pelvis with IV contrast was requested for the patient, which showed the following findings.

Congluomated lymphadenopathy containing coarse calcification and area of cystic degeneration was detected which encased SMA (figure 2). By given the history, clinical condition, laboratory data (normal CBC, ESR and LDH) and imaging, mesenteric lymphadenopathy as a rare and benign manifestation in Gaucher disease was considered. Due to the strong clinical suspicion of the benign process and the high risk of surgery for the patient, sampling and surgery were not performed. It is noteworthy that taking an

Figure 1

In Ultrasound, evidence of lobulated large mesenteric mass measuring about 91×57 mm in the epigastric region by spreading to the umbilical region was seen



antacid after one week relieved the patient's epigastric pain. The patient was also followed up by serial ultrasounds over the course of a year, and the lesions remained unchanged and no significant changes were observed in the patient's clinical and laboratory evaluation during this one-year follow-up period.

DISCUSSION

Accumulation of glycosphingolipids in the mononuclear phagocyte system, may progress to disabling and potentially life-threatening complications when left undiagnosed and untreated [1]. Mesenteric lymphadenopathy is a rare and benign manifestation in pediatric patients with Gaucher disease, which is generally refractory to ERT and substrate reduction therapies [3].

The clinical implication of this condition is undetermined, with no consensus on treatment strategies. However, this condition can reflect the progression of Gaucher disease. Moreover, it can be accompanied by the serious complication, protein-losing enteropathy [4].

Figure 2
Conguloromated lymphadenopathy containing coarse calcification and area of cystic degeneration was detected which encased SMA



Despite successful treatment with ERT, several cases of this manifestation have been reported. It is not clear why ERT is not effective in these rare cases. But it may be because the lymph nodes do not have access to this type of treatment [3].

In a few studies biopsy of lymph nodes was performed which revealed no malignancy [4–6].

The main differential diagnosis is lymphoma which is still a rare manifestation in Gaucher disease, however calcification in lymphomatous mass is only seen after therapy [7].

Thus, according to the results of our study and other similar studies, misdiagnosis as a malignant tumor and incorrect treatment can be avoided with increased recognition and knowing better about this rare manifestation. Surgical interventions may only be required if malignant lesions are highly suspected and mass effects are present on other organs due to the size of the lymph nodes. Further reporting and evaluation, and longer follow-up of similar cases, are needed to obtain more accurate information.

CONCLUSION

Our study showed that mesenteric lymphadenopathy can be a benign and rare manifestation in Gaucher disease and does not require immediate intervention. It can be monitored and if it leads to more complications, then appropriate interventions could be considered.

FUNDING

Not specified.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

ORCID

Gholamzadeh Baeis M. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1696-6307>

References

- Carubbi F., Cappellini M.D., Fargion S., Fracanzani A.L., Nascimbeni F. Liver involvement in Gaucher disease: A practical review for the hepatologist and the gastroenterologist. *Dig Liver Dis* 2020; 52 (4): 368–73.
- Ye Z.-X., Gao X., Qu Q., Ye X., He X.-D. Gaucher Disease with Mesenteric Lymphadenopathy: A Case with 13-year Follow-up. *Chin Med J* 2016; 129 (20): 2502–3.
- Simpson E.A., Jaring M.R., Andronikou S. Massive Mesenteric Lymphadenopathy Causing Protein-losing Enteropathy in Gaucher Disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 2017; 39 (5): e300–1.
- Lee B.H., Kim D.Y., Kim G.H., Cho K.J., Yoon H.K., Yoo H.W. Progressive mesenteric lymphadenopathy with protein-losing enteropathy; a devastating complication in Gaucher disease. *Mol Genet Metab* 2012; 105 (3): 522–4.
- Abdelwahab M., Seifeldien H.M. Mesenteric and Mediastinal Lymphadenopathy in Egyptian Children With Gaucher Disease Types 1 and 3 Treated With Enzyme Replacement Therapy. *J Pediatr Hematol Oncol* 2015; 37 (5): e316–22.
- Burrow T.A., Cohen M.B., Bokulic R., Deutsch G., Choudhary A., Falcone R.A. Jr, et al. Gaucher disease: progressive mesenteric and mediastinal lymphadenopathy despite enzyme therapy. *J Pediatr* 2007; 150 (2): 202–6.
- Frampas E. Lymphomas: Basic points that radiologists should know. *Diagn Interv Imaging* 2013; 94 (2): 131–44.

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 01.09.2020
Принята к печати 02.02.2021

Контактная информация:
Швец Оксана Анатольевна,
канд. мед. наук, врач-аллерголог-
иммунолог отделения иммунологии
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия
Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: shv1808@rambler.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-170-179

Редкий ОВИН-подобный фенотип при аутоиммунном лимфопролиферативном синдроме

О.А. Швец, Е.А. Деордиева, М.А. Курникова, Д.Е. Першин, А.М. Киева, А.В. Пшонкин, Н.С. Сметанина, А.Ю. Щербина

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

Аутоиммунный лимфопролиферативный синдром – первичный иммунодефицит, вызванный нарушением FAS-опосредованного апоптоза, обычно сопровождающийся гипергаммаглобулинемией. Тем не менее в данной когорте пациентов случаются исключения, затрудняющие своевременную диагностику, в частности, может наблюдаться симптоматика, напоминающая общую переменную иммунную недостаточность. В данной статье мы описываем редкий случай агаммаглобулинемии у пациентки с генетически подтвержденным аутоиммунным лимфопролиферативным синдромом. Родители пациентки дали согласие на использование информации, в том числе фото ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: аутоиммунный лимфопролиферативный синдром, лимфопролиферация, агаммаглобулинемия, аутоиммунитет, цитопения, общая переменная иммунная недостаточность, FAS, дубль-негативные Т-лимфоциты, цианокобаламин (витамин B₁₂)

Швец О.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 170–179.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-170-179

Rare CVID-like phenotype of autoimmune lymphoproliferative syndrome

O.A. Shvets, E.A. Deordieva, M.A. Kurnikova, D.E. Pershin, A.M. Kiev, A.V. Pshonkin, N.S. Smetanina, A.Yu. Shcherbina

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

Autoimmune lymphoproliferative syndrome is a primary immunodeficiency caused by defective FAS-mediated apoptosis and usually accompanied by hypergammaglobulinemia. Yet some exceptions take place in the cohort of patients that complicated timely diagnosis, in particular, some symptoms may resemble common variable immune deficiency. In this article, we describe the patient with rare case of agammaglobulinemia and genetically confirmed autoimmune lymphoproliferative syndrome. The patient's parents agreed to use the information, including the child's photo, in scientific research and publications.

Key words: autoimmune lymphoproliferative syndrome, lymphoproliferation, agammaglobulinemia, autoimmunity, cytopenia, common variable immune deficiency, FAS, double-negative T-lymphocytes, cyanocobalamin (vitamin B₁₂)

Shvets O.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 170–179.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-170-179

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 01.09.2020
Accepted 02.02.2021

Correspondence:

Oksana A. Shvets,
Cand. Med. Sci., an allergist-immunologist
at the Department of Immunology, Dmitry
Rogachev National Medical Research
Center of Pediatric Hematology, Oncology
and Immunology, Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: shv1808@rambler.ru

Аутоиммунный лимфопролиферативный синдром (АЛПС) – первичный иммунодефицит (ПИД), характеризующийся дисрегуляцией лимфоцитарного гомеостаза вследствие нарушения FAS-опосредованного апоптоза [1, 2]. Клинические проявления включают лимфаденопатию, спленомегалию, аутоиммунные цитопении и повышенный риск лимфоидной малигнизации [2]. Большинство пациентов имеют герминальную или соматическую мутацию гена FAS [3–6]. У небольшой популяции пациентов с АЛПС обнаруживаются мутации генов FASL или CASP10 [4, 6–8], а также CASP8, FADD [9]. Приблизительно треть пациентов с АЛПС не имеют известного генетического дефекта [4, 10].

В основе патогенеза АЛПС, как было сказано выше, лежит нарушение FAS-опосредованного апоптоза (рисунки 1). В нормальном состоянии Т-кле-

точная активация индуцирует экспрессию FAS-лиганда (FASL), который может связывать FAS-рецептор на той же или рядом расположенной клетке. Это событие приводит к олигомеризации FAS-рецептора и связыванию FAS-ассоциированного белка с доменом смерти (FADD). Далее происходит вовлечение каспаз 8 (CASP8) и 10 (CASP10) с формированием комплекса DISC (death-inducing signaling complex), передающего сигнал для терминальной активации каспаз, с последующим апоптозом. Этот процесс известен как активация, индуцирующая клеточную смерть [11]. Данная схема у здоровых индивидуумов позволяет предотвращать экспансию аутореактивных Т-клеток, приводящих к развитию аутоиммунных заболеваний [12]. У пациентов с АЛПС из-за нарушений в FAS-пути накапливаются аутореактивные Т-лимфоциты, становящиеся негативными по маркерам CD4

и CD8 и являющиеся терминально дифференцированными Т-клетками с высоким пролиферативным потенциалом, вследствие избыточной активации akt/mTOR-пути [13]. Интересна пенетрантность заболевания у родственников с одной и той же мутацией: например, пробанд имеет выраженную клиническую картину заболевания, а его родственники – только лабораторные признаки АЛПС (экспансию дубль-негативных Т-клеток (ДНТ) в периферии и/или наличие аутоантител) без основных проявлений, таких как лимфопролиферативные и аутоиммунные заболевания [14–16]. В ряде случаев объяснением данного феномена является наличие соматического неблагоприятного события во втором аллеле *FAS* [5].

Возраст дебюта заболевания значительно варьирует: от 0 месяцев до 18 лет, с медианой в раннем возрасте [6, 17], также описывают и более поздние манифестации, в период между 18 и 35 годами [17, 18]. Часто первыми проявлениями болезни на фоне общего благополучия становятся персистирующая лимфаденопатия и спленомегалия [6, 17, 18]. Самым распространенным клиническим проявлением является комбинация лимфопролиферативного синдрома с аутоиммунными цитопениями, которые могут затрагивать любую клеточную линию [16, 17]. Крайне редко заболевание начинается с изолированного аутоиммунного состояния или лимфомы [18]. В аутоиммунный процесс могут быть также вовлечены солидные органы: печень (аутоиммунный гепатит),

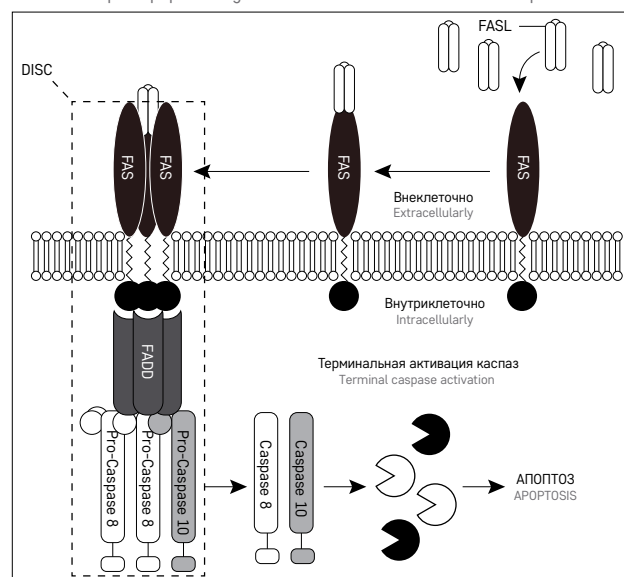
Рисунок 1

Упрощенная схема FAS-опосредованного апоптоза (цит. по [12] с модификацией)

FASL связывает FAS-рецепторы, взаимодействует с FADD и про-каспазы 8 и 10, которые вместе с FAS составляют сигнальный комплекс DISC. DISC передает проапоптотический сигнал через активацию терминальных каспаз

Figure 1
Simplified diagram of FAS-mediated apoptosis (quoted from [12] with modification)

The FAS ligand (FASL) binds the FAS, this recruits FAS-associated protein with death domain (FADD) and pro-caspases 8 and 10, which together with FAS constitute the death-inducing signaling complex (DISC). The DISC transmits a pro-apoptotic signal via the activation of terminal caspases



почки (гломерулонефрит), соединительная ткань (системная красная волчанка), глаза (увеит), щитовидная железа (тиреоидит), кожа (уртикарная сыпь), нервная система (синдром Гийена-Барре) [2, 17, 19].

При АЛПС описаны тяжелые инфекционные эпизоды: длительная лихорадка (более 6 мес) вследствие инфекции, вызванной *Cryptococcus neoformans*, с поражением центральной нервной системы на фоне гипогаммаглобулинемии [20], а также септические состояния, обусловленные *Streptococcus pneumoniae*, у пациентов с АЛПС без гипогаммаглобулинемии, с летальным исходом в случаях наличия в анамнезе спленэктомии [17, 21]. Причем предполагается, что у носителей мутации гена *FAS* повышенная восприимчивость к *S. pneumonia* может быть единственным проявлением заболевания [21].

От АЛПС можно ожидать высокую подверженность к развитию инфекций в связи с наблюдаемым дефектом В-клеточной функции, проявляющейся в виде низкого содержания сывороточного иммуноглобулина М (IgM), низкой антительной продукцией IgM в ответ на вакцинацию неконъюгированной вакциной против *S. pneumoniae*, а также низким содержанием циркулирующих В-клеток памяти, включая В-клетки маргинальной зоны (MZB) [22]. Однако, исходя из опыта ведения пациентов нашего Центра, в клинической картине инфекции отходят на задний план: из 28 детей с АЛПС инфекционным эпизодам были подвержены только четверо, при этом все пациенты имели схожие лабораторные проявления относительно содержания иммуноглобулинов (ни у одного из описанных нами ранее не зафиксировано снижение иммуноглобулина G (IgG)) и В-лимфоцитов [16].

Помимо цитопений в общем анализе крови пациентов с АЛПС может наблюдаться эозинофилия разной степени выраженности [2, 16, 23, 24]. Y.-J. Kim и соавт. полагают, что пациенты с АЛПС и эозинофилией имеют более высокий риск смерти вследствие инфекционных осложнений [25].

К сожалению, нет одного лабораторного показателя, благодаря которому можно было бы во всех случаях с полной уверенностью диагностировать АЛПС. В 1999 г. исследователи Национального института здоровья США (NIH) представили первые критерии для диагностики АЛПС, которые были модифицированы в 2010 г. [4]. Также существуют диагностические критерии, разработанные Европейским обществом по иммунодефицитным состояниям (ESID) [26]. Эти документы сходятся в том, что основное требование для АЛПС – длительно существующая (более 6 мес) лимфопролиферация, а основное отличие между ними заключается в количестве патогномоничных для данного заболевания ДНТ с фенотипом TCRα/β⁺CD3⁺CD4⁺CD8⁺, обнаружи-

ваемых в периферической крови, необходимых для постановки диагноза. Значимым количеством ДНТ для АЛПС, согласно критериям ESID, считается 6% от CD3⁺-лимфоцитов, в то время как для критериев NIH достаточно 2,5%. Дополнительными диагностическими признаками для представленных критериев являются повышенные концентрации биомаркеров – витамина B₁₂, IL-10, sFASL и IL-18. В своей работе с АЛПС мы придерживаемся критериев ESID (таблица 1).

Большинство пациентов с АЛПС демонстрируют гипериммуноглобулинемию: поликлональное повышение IgG и иммуноглобулина А (IgA) [23, 27]. Для дефицита CASP8 ранее была описана гипогаммаглобулинемия [28]. Также в литературе имеются редкие сообщения, что ряд пациентов с неуточненным генетическим дефектом и с мутацией гена *FAS* (до 7,5%) [20, 29–31] имеют гипогаммаглобулинемию, которая также в сочетании с лимфопролиферацией может наблюдаться при общей вариабельной иммунной недостаточности (ОВИН).

ОВИН – наиболее частый симптоматический ПИД с приблизительной частотой встречаемости от 1:50 000 до 1:25 000 [32, 33], это смешанная группа заболеваний, проявляющихся рецидивирующими и тяжелыми инфекционными эпизодами [32]. Диагностика может быть затруднена и отсрочена из-за большого разнообразия клинических фенотипов, которые в дополнение к инфекциям могут включать лимфопролиферативные, гранулематозные и/или аутоиммунные проявления [34]. В настоящее время диагноз

ОВИН основывается на диагностических критериях ESID [26] (таблица 1). Ключевым диагностическим событием является наличие низкого сывороточного IgG, а также потеря или выраженное снижение IgA и/или IgM наряду с плохим или отсутствующим специфическим антительным ответом на инфекции и вакцинацию, отсутствие изогемагглютининов [32, 33, 35]. Для постановки диагноза должны быть исключены другие причины гипогаммаглобулинемии.

Также на основании дополнений к диагностическим критериям ESID диагноз ОВИН устанавливается детям старше 4 лет без признаков глубокого Т-клеточного дефицита, хотя первые проявления заболевания могут дебютировать и раньше [36].

Патогенез ОВИН в большинстве случаев комбинированный, имеющий мультифакториальную природу, однако в последние десятилетия с развитием генетических исследований у 20% пациентов с фенотипом ОВИН описаны моногенные дефекты нарушения В-клеточной активации [36, 37], в частности, в классификации IUIS (International Union of Immunological Societies) 2019 г. представлен 21 ген [9]. Так, например, описаны мутации генов с аутосомно-рецессивным типом наследования: *TNFRSF13C*, *CD19*, *MSHA1*, *CR2*, *CD81* и *CD27* [38]. Мутации гена *TNFRSF13B* обнаруживаются у 8–10% пациентов с ОВИН чаще в гетерозиготном состоянии, предполагая либо доминантно-негативный эффект, либо гапло-недостаточность [39, 40]. Описаны аутосомно-доминантные мутации, например, генов *NFKB1* [41], *NFKB2* [42], *PIK3CD*, *PIK3R1* [43, 44] и др. Также представ-

Таблица 1

Критерии диагностики ESID для АЛПС и ОВИН (для пациентов без генетической верификации диагноза) [26]

Table 1

ESID diagnostic criteria for ALPS and CVID (only for patients with no genetic diagnosis) [26]

АЛПС ALPS	ОВИН CVID
Клинические признаки, включающие один из следующих симптомов Clinical signs, at least one of the following	
• Спленомегалия • Лимфаденопатия (> 3 групп, > 3 мес. без инфекции и злокачественного новообразования) • Аутоиммунная цитопения (≥ 2 линий) • Лимфома в анамнезе • Положительный семейный анамнез • Splenomegaly • Lymphadenopathy (> 3 nodes, > 3 months, non-infectious, non-malignant) • Autoimmune cytopenia (≥ 2 lineages) • History of lymphoma • Affected family member	• Повышенная восприимчивость к инфекциям • Аутоиммунные проявления • Гранулематозные заболевания • Необъяснимая поликлональная лимфопролиферация • Члены семьи с дефицитом антител • Increased susceptibility to infection • Autoimmune manifestations • Granulomatous disease • Unexplained polyclonal lymphoproliferation • Affected family member with antibody deficiency
Лабораторные признаки Laboratory findings	
Один из следующих симптомов: • TCRα/β⁺CD3⁺CD4⁺CD8⁺ Т-клетки > 6% от CD3⁺ Т-клеток • Повышенные биологические маркеры (не менее двух): растворимый FASL (sFASL) > 200 пг/мл, общий витамин B₁₂ > 1500 нг/л, IL-10 > 20 пг/мл, нарушенный FAS – опосредованный апоптоз At least one of the following: • TCRα/β⁺CD3⁺CD4⁺CD8⁺ of TCRα/β⁺CD3⁺ T-cells > 6% • Elevated biomarkers (at least 2 of the following): sFASL > 200 pg/ml, vitamin B₁₂ > 1500 ng/l, IL-10 > 20 pg/ml, impaired FAS – mediated apoptosis	Значительное снижение IgG, IgA с/без снижения содержания IgM сыворотки (измерения проведены как минимум дважды, < 2SD от возрастной нормы). А также наличие одного из следующих условий: • плохой антительный ответ на вакцинацию (и/или отсутствие изогемагглютининов) • низкие переключенные В-клетки памяти (< 70% от возрастной нормы) И исключены вторичные причины гипогаммаглобулинемии Marked decrease of IgG and marked decrease of IgA with or without low IgM levels (measured at least twice, < 2SD of the normal levels for their age) And at least one of the following: • poor antibody response to vaccines (and/or absent isohemagglutinins), i.e., absent of protective levels despite vaccination where defined • low switched memory B cells (< 70% of age-related) And secondary causes of hypogammaglobulinemia have been excluded

лены гены с X-сцепленным типом наследования: *ATP6AP1* и *SH3KBP1* [9].

Несколько исследований указывают на значение эпигенетических факторов в патогенезе ОВИН [45, 46]. Эпигенетические механизмы могут влиять на экспрессию генов без изменения последовательности герминальной ДНК и играют важную роль в нормальной программе развития иммунных клеток [45]. Механизмы, описанные к настоящему времени, включают метилирование ДНК, модуляцию хроматина, модификацию гистонов, экспрессию транскрипционных факторов и некодирующих РНК [47].

Клинически ОВИН проявляется как повышенная чувствительность к инфекциям со стороны верхних и нижних дыхательных путей, а также желудочно-кишечного тракта [48], однако от 30 до 50% пациентов дополнительно имеют неинфекционные состояния, включая легочные и гастроинтестинальные воспалительные заболевания, лимфоидную гиперплазию, гранулематозное воспаление, спленомегалию и разнообразные формы аутоиммунитета [49, 50]. Среди аутоиммунных проявлений наиболее часто встречаются цитопении [49, 51], но также могут развиваться и другие состояния иммунной дисрегуляции, включающие поражение легочной ткани в виде интерстициальной болезни легких [49, 52], желудочно-кишечного тракта (целиакоподобная энтеропатия, аутоиммунный гепатит) [49, 50], аутоиммунные ревматологические (артриты, васкулиты, миозиты, системная красная волчанка, болезнь Бехчета, синдром Шегрена) [53, 54], дерматологические (алопеция, псориаз, красный плоский лишай, витилиго) [49, 55, 56] проявления и эндокринопатии [42]. Для ОВИН описана повышенная частота развития лимфопролиферативных расстройств и злокачественных новообразований [57].

Предполагается, что аутоиммунные проявления при ОВИН связаны с рядом факторов. В качестве одной из причин исследователи называют нарушение Т-клеточной толерантности, в частности из-за дефицита Т-регуляторных клеток [58]. Другие авторы указывают на значимость отклонений в субпопуляции лимфоидных клеток [59], нарушений, возникающих в ходе переключения синтеза иммуноглобулинов, соматической гипермутации [60]. Также существует предположение о связи аутоиммунитета с повышенным содержанием BAFF, с повреждением Toll-подобных рецепторов [55], с хронической антигенной стимуляцией, происходящей из-за дисфункции мукозальных барьеров [61]. При моногенном ОВИН большое значение играют вовлеченные гены, отвечающие за развитие, активацию В-лимфоцитов, антигенную активацию сигнального пути, выживание и созревание до стадии плазматических клеток [61]. Примечательно, что, несмотря на низкое содержание

иммуноглобулинов сыворотки и плохой специфический ответ, у пациентов с ОВИН все же обнаруживаются аутоантитела [62].

Таким образом, при АЛПС и ОВИН может наблюдаться схожесть клинических проявлений в виде аутоиммунных осложнений и лимфопролиферации, но также при данных патологиях выражено страдает В-клеточное звено. Так, ОВИН характеризуется широким разнообразием нарушений В-клеточной функции, включая потерю переключенных В-клеток памяти (SMB) и плазматических клеток (PB), экспансию транзиторных В-клеток и/или CD21^{lo} В-лимфоцитов, нарушение формирования герминальных центров [63]. При АЛПС с мутациями гена *FAS* и без уточненного генетического дефекта сообщалось о процентном дефиците CD27⁺ В-клеток памяти [64], MZB, PB [30], что отражает нарушение созревания и дифференцировки В-лимфоцитов, возможно, вследствие нарушения апоптоза или перераспределения – инфильтрации данными клетками лимфоидных органов. До настоящего времени остается неясным: каким образом *FAS*-рецептор вовлечен в эти процессы и нет указаний на то, что какие-то определенные мутации приводят к развитию гипо-/агаммаглобулинемии при АЛПС. Так, например, у некоторых пациентов с *FAS*-АЛПС и гипогаммаглобулинемией имелись родственники с аналогичной мутацией, с нормальным или повышенным содержанием IgG [30].

В качестве дифференциальной диагностики АЛПС и ОВИН в большинстве случаев будет полезна упомянутая ранее оценка содержания ДНТ-лимфоцитов и витамина B₁₂ (цианокобаламина) [30, 65]. У пациентов с ОВИН в ряде случаев может наблюдаться повышение ДНТ-клеток. Согласно некоторым представленным литературным данным, ДНТ-лимфоциты у пациентов с ОВИН составили 1,3–4,2% от CD3⁺-лимфоцитов [30]. В то же время содержание витамина B₁₂ при ОВИН не превышало диагностического порога, необходимого для постановки диагноза АЛПС [30]. У наших пациентов, в частности, с мутациями в *PIK3R1*, *PIK3CD* и *NFKB2* и наличием лимфопролиферации также не было отмечено повышения витамина B₁₂, в то время как при АЛПС он коррелировал со степенью выраженности лимфопролиферативного синдрома [6, 16].

При наличии выраженной лимфаденопатии, учитывая высокие риски развития лимфом как при АЛПС [23], так и при ОВИН [57], необходимо проведение биопсии лимфатического узла. При АЛПС иммуногистохимическое исследование биоптата продемонстрирует типичную паракортикальную экспансию смесью ДНТ-клеток и поликлональных плазмочитов [6, 12].

Резюмируя, хотим подчеркнуть, что в большинстве случаев клиническая картина ОВИН и АЛПС

удовлетворяет разработанным диагностическим критериям, за исключением отдельно взятых случаев. Тем не менее правильная диагностика важна для выбора адекватной терапии.

Как было сказано выше, гипогаммаглобулинемия сопровождается ОВИН, и, соответственно, заместительная терапия внутривенным иммуноглобулином (ВВИГ) является важным терапевтическим воздействием, которое сокращает частоту инфекционных эпизодов наряду с регулярной профилактической антибактериальной терапией [66]. Также считается, что вакцинация инактивированными препаратами в группе пациентов с ОВИН с наличием паттерна постгерминальных В-лимфоцитов эффективна для усиления гуморального и клеточного иммунитета [67]. Учитывая высокую частоту аутоиммунных осложнений, таким пациентам может потребоваться разнообразная иммуносупрессивная терапия. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток рекомендуется только в случае тяжелого течения ОВИН, связанного с клеточными иммунными дефектами и аутоиммунными проявлениями, резистентными к проводимой терапии [68].

При АЛПС более 50% пациентов нуждаются в иммуносупрессивном воздействии [12]. Наиболее важная цель терапии – достичь контроля над цитопениями и избежать спленэктомии [69]. До недавнего времени для стабилизации тяжелых цитопений использовали разнообразную иммуносупрессию: высокие дозы ВВИГ, глюкокортикостероиды [70], циклофосфамид, винкристин, ритуксимаб [23]. В качестве эффективной базисной иммуносупрессивной терапии аутоиммунных цитопений в литературе был описан микофенолата мофетил [17, 23]. Однако наиболее полного контроля над заболеванием удалось достичь после начала использования с 2009 г. mTOR-ингибитора (mammalian target of rapamycin, или мишень для рапамицина у млекопитающих) – сиролимуса [71], который в настоящее время показал свою долгосрочную безопасность и эффективность в контроле основных проявлений заболевания с хорошей переносимостью лечения [10, 72].

Любая иммуносупрессивная терапия при АЛПС по показаниям может быть дополнена введением ВВИГ, а также рекомбинантным гранулоцитарным колониестимулирующим фактором [12]. Спленэктомию при АЛПС по возможности необходимо избегать, поскольку это значительно ухудшает прогноз таких пациентов [23]. В случае неизбежности данной терапевтической опции, например, при развитии гиперспленизма, резистентного к проводимой терапии, пациент будет нуждаться в долгосрочной антибактериальной профилактике и проведении вакцинации против гриппа и инкапсулированных микроорганизмов (*S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae*

тип В) [12, 73, 74]. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при АЛПС так же, как и при ОВИН, рассматривается только в случае рефрактерного течения заболевания, развития лимфом [75, 76].

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Родители пациентки дали согласие на использование информации, в том числе фото ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Девочка, 11,5 года, был установлен диагноз ПИД-АЛПС на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева) путем проведения молекулярного генетического анализа (NGS-панель «Гемолитические анемии») в связи с наличием длительно существующего лимфопролиферативного синдрома и трехростковой цитопении разной степени выраженности. Пациентка удовлетворяла диагностическим критериям ESID для АЛПС, однако имела нетипичную для данного заболевания агаммаглобулинемию. В связи с этим поступила в стационар кратковременного лечения НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева для проведения дообследования и инициации терапии.

Из анамнеза известно, что ребенок от физиологической беременности, срочных родов, с нормальными массо-ростовыми показателями. Росла и развивалась по возрасту. В возрасте 1,5 года выявлено увеличение селезенки относительно возрастных норм по данным ультразвукового исследования, с возрастом выраженность спленомегалии нарастала, к 11,5 годам селезенка достигала малого таза. С возраста 3,5 года по данным медицинской документации описывалось увеличение печени, максимально +3–4 см по средней ключичной линии, пальпаторно. Через год отмечались ретикулоцитоз (108‰) с нормальным содержанием гемоглобина, легкая тромбоцитопения $114 \times 10^9/\text{л}$, лейкопения $3,2 \times 10^9/\text{л}$. В течение дальнейшей жизни у ребенка наблюдалась непостоянная легкая анемия (минимально 99 г/л) с ретикулоцитозом (максимально 128‰), тромбоцитопения (минимально $76 \times 10^9/\text{л}$), сохранялась умеренная лейкопения. В ходе обследования пациентке были исключены болезни обмена веществ: Гоше, Фабри, Помпе. В 10 лет девочке выполнено молекулярно-генетическое исследование – NGS-панель «Гемолитические анемии» (НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева), результатом которого явилось выявление ранее не описанного варианта гена *FAS* в экзоне 9 в гетерозиготном состоянии: с.758G>T (p.Gly253Val). Данный вариант отсутствует в базах данных аллельных вариантов человека и не описан в научной литературе как патогенный, однако в этом

же кодоне и в этой же позиции описана другая гетерозиготная замена – с.758G>A, p.Gly253Asp (aka p.G237D) как патогенная при лимфопролиферативном синдроме с аутоиммунными проявлениями [29]. Согласно компьютерным программам предсказания патогенности (PolyPhen2_HDIV, PolyPhen2_HVAR, SIFT, PROVEAN, UMD Predictor), вариант является вероятно патогенным. По совокупности данных замена была классифицирована как вероятно патогенная.

Пациентке проведено иммунологическое дообследование по месту жительства, в ходе которого обнаружено характерное для АЛПС повышение ДНТ-клеток до 12%, но с нетипичной агаммаглобулинемией: IgG 0,9 г/л, IgM 0,1 г/л, IgA 0,2 г/л. В анамнезе у девочки зафиксировано несколько тяжелых инфекционных эпизодов: две очаговые пневмонии в возрасте 1 года и 3 лет, острая кишечная инфекция в 1,5 года, в остальном болела редко, без осложнений. Семейный анамнез не был отягощен по иммуногематологической патологии.

На момент первичной госпитализации в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в возрасте 11,5 года: при осмотре отмечаются умеренное увеличение периферических лимфатических узлов (подмышечные, паховые до 1,5 см), выраженная спленомегалия – селезенка +13 см по среднеключичной линии, гепатомегалия – печень +7,5 см по среднеключичной линии. По данным компьютерной томографии (КТ) зафиксированы участки деформации легочного интерстиция, вероятно, линейный пневмофиброз (рисунок 2), гепатоспленомегалия (рисунок 3). По данным лабораторных обследований выявлено: ретикулоцитоз (59%) на фоне нормального содержания гемоглобина (124 г/л) с отрицательной прямой пробой Кумбса, тромбоцитопения ($74 \times 10^9/\text{л}$), лейкопения ($2,8 \times 10^9/\text{л}$), агаммаглобулинемия (IgG 0,4 г/л, IgA < 0,3 г/л, IgM < 0,18 г/л), повышение ДНТ (11%) и содержания витамина B₁₂ (цианокобаламина, 11755 нг/л) (таблица 2). Наблюдались отклонения в иммунофенотипировании лимфоцитов пациентки: 1) умеренное абсолютное снижение Т-хелперов (CD4⁺ $0,4 \times 10^6/\text{мл}$), которые были представлены преимущественно наивными клетками (71%), а относительное содержание субпопуляции терминально дифференцированных (TEMRA – 2,8%) и эффекторных (EM – 6,8%) клеток памяти были снижены; 2) незначительное абсолютное снижение цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8⁺ $0,5 \times 10^6/\text{мл}$) с относительным повышением содержания TEMRA (40%), но со снижением клеток памяти (0,5%) и EM (9,6%); 3) снижение В-лимфоцитов ($0,1 \times 10^6/\text{мл}$) с процентным преобладанием наивных (91,8%), с дефицитом переключенных (1,2%) и плазматических (0,8%) клеток (таблица 2).

Ребенку инициирована патогенетическая терапия сиролимусом в дозе 2 мг/м²/сут с целевой концентрацией препарата в крови, а также регулярная заместительная терапия ВВИГ (первое введение в режиме насыщения, далее в дозе 0,5 г/кг ежемесячно), с хорошей переносимостью лечения.

Пациентке был проведен дополнительный молекулярно-генетический анализ с использованием таргетной NGS-панели «Иммунологическая». Других значимых генетических вариантов, кроме вышеописанной замены гена FAS, объясняющих наличие агаммаглобулинемии, не выявлено. Наличие изменения гена FAS было подтверждено у пробанда методом

Рисунок 2

КТ грудной клетки: участок пневмофиброза (красная стрелка), отсутствие инфильтративных изменений

Figure 2

CT of the chest: the area of pulmonary fibrosis (the red arrow), no infiltrative changes

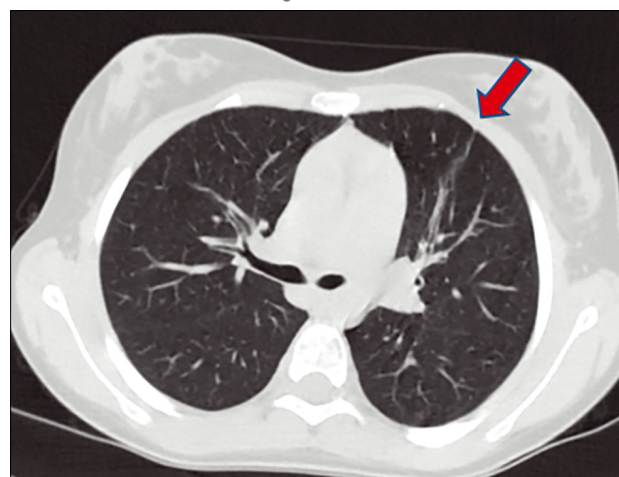
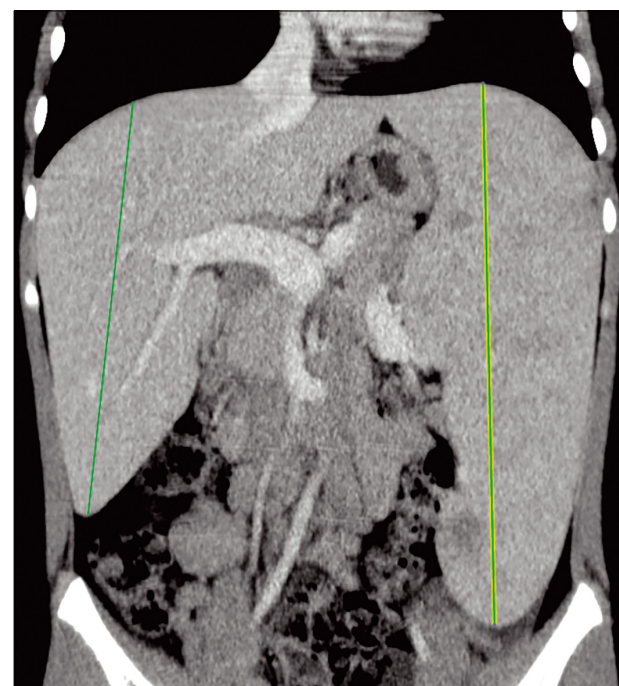


Рисунок 3

КТ брюшной полости: гепатоспленомегалия

Figure 3

CT of the abdomen: hepatosplenomegaly



секвенирования по Сэнгеру, данная мутация возникла *de novo* (не была выявлена у родителей и сибса).

При повторной госпитализации через 6 мес наблюдалось выраженное сокращение лимфопролиферации – пальпаторно селезенка +5 см, печень по краю реберной дуги, тенденция к стабилизации гематологических показателей, сокращение биологических маркеров АЛПС (ДНТ – 3,5%, цианокобаламин – 3122 нг/л), без восстановления гуморального звена, со сниженными В-клетками

($0,1 \times 10^6/\text{мл}$). Наблюдались изменения со стороны субпопуляций Т-лимфоцитов в виде нормализации относительного содержания эффекторных Т-клеток памяти среди CD4^+ и CD8^+ , а также относительных показателей TEMRA и клеток памяти среди CD8^+ (таблица 2).

В перспективе планируется выполнить дообследование: проведение полноэкзомного секвенирования и хромосомного микроматричного анализа в целях поиска возможных дополнительных генетических

Таблица 2
Основные лабораторные показатели

Table 2
Main laboratory findings

Лабораторный показатель Laboratory parameter	До терапии Initial	На терапии On therapy	Норма Normal range
Группа крови A(II)Rh(-). Изогеммагглютинины системы ABO присутствуют Blood group A(II)Rh(-). Isohemagglutinins of the ABO system are present			
Показатели общего анализа крови (выборочно) и витамин B ₁₂ Complete blood count (selectively) and vitamin B ₁₂			
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ WBC, $\times 10^9/\text{l}$	2,8	3,9	6,1–9,9
Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$ Granulocytes, $\times 10^9/\text{l}$	1	1,4	1,5–8,5
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$ Lymphocytes, $\times 10^9/\text{l}$	1,3	1,5	1,5–7
Гемоглобин, г/л Hb, g/l	124	142	115–138
Ретикулоциты, ‰ Rt, ‰	59	22	2–12
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$ PLT, $\times 10^9/\text{l}$	74	133	204–356
Цианокобаламин (общий витамин B ₁₂), нг/л Vitamin B ₁₂ , ng/l	11755	3122	196–1020
Иммуноглобулины сыворотки Serum immunoglobulins			
IgA, г/л IgA, g/l	< 0,3	< 0,3	0,9–2,9
IgM, г/л IgM, g/l	< 0,18	0,205	0,6–2
IgG, г/л IgG, g/l	0,4	6,42	8,4–16,6
Иммуноглобулины E, ед/мл Immunoglobulin E, U/ml	< 2,3	18,3	0–100
Иммунофенотипирование лимфоцитов (выборочно) Immune cells assay (selectively)			
ДНТ, % TCRabCD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻ , %	11	3,5	< 2,5
CD3 ⁺ CD4 ⁺ (Тh-клетки), $\times 10^6/\text{мл}$ CD3 ⁺ CD4 ⁺ (Th cells), $\times 10^6/\text{ml}$	0,4	0,5	0,7–1,1
CD45RA ⁺ CD197 ⁺ (Т-наивные), % от CD4 ⁺ CD45RA ⁺ CD197 ⁺ (T-naive cells), % from CD4 ⁺	71	62	25–63
CD45RA ⁺ CD197 ⁻ (эффекторные клетки памяти), % от CD4 ⁺ CD45RA ⁺ CD197 ⁻ (effector memory cells), % from CD4 ⁺	6,8	13,7	12–30
CD45RA ⁺ CD197 ⁻ (TEMRA), % от CD4 ⁺ CD45RA ⁺ CD197 ⁻ (TEMRA), % from CD4 ⁺	2,8	1,7	4–24
CD3 ⁺ CD8 ⁺ (Т-супрессоры), $\times 10^6/\text{мл}$ CD3 ⁺ CD8 ⁺ (T cells), $\times 10^6/\text{ml}$	0,5	0,4	0,6–0,9
CD45RA ⁺ CD197 ⁺ (Т-клетки памяти), % от CD8 ⁺ CD45RA ⁺ CD197 ⁺ (T-memory cells), % from CD8 ⁺	0,5	2,5	2–15
CD45RA ⁺ CD197 ⁻ (эффекторные клетки памяти), % от CD8 ⁺ CD45RA ⁺ CD197 ⁻ (Effector memory cells), % from CD8 ⁺	9,6	22,6	24–58
CD45RA ⁺ CD197 ⁻ (TEMRA), % от CD8 ⁺ CD45RA ⁺ CD197 ⁻ (TEMRA), % from CD8 ⁺	40	14,9	7–26
CD19 (В-лимфоциты), $\times 10^6/\text{мл}$ CD19 (B-cells), $\times 10^6/\text{ml}$	0,1	0,1	0,3–0,5
В-лимфоциты наивные (IgD ⁺ CD27 ⁻), % B cells naive (IgD ⁺ CD27 ⁻), %	91,8	79,3	64–84
Плазматические В-лимфоциты (CD19 ⁺ CD20 ⁺ CD38 ⁺⁺) % от CD19 ⁺ Plasma B cells (CD19 ⁺ CD20 ⁺ CD38 ⁺⁺) % from CD19 ⁺	0,8	0	2–11
В-лимфоциты памяти переключенные (IgD ⁻ IgM ⁺ CD27 ⁺), % B cells memory switched (IgD ⁻ IgM ⁺ CD27 ⁺), %	1,2	2,2	6–16

дефектов, учитывая редкость агаммаглобулинемии при АЛПС.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФИЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Shvets O.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5347-7150>

Deordieva E.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8208-2075>

Kurnikova M.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0900-6874>

Pershin D.E. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6148-7209>

Kieva A.M. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2467-2840>

Pshonkin A.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2057-2036>

Smetanina N.S. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8805-1499>

МНЕНИЕ ЭКСПЕРТА

А.Ю. Щербина, д-р мед. наук, профессор, заведующая отделением иммунологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

В статье продемонстрирован редкий случай генетически верифицированного АЛПС с агаммаглобулинемией у пациентки, полностью удовлетворяющей диагностическим критериям для данной патологии. Анализ фенотипа В-лимфоцитов показал преобладание наивных клеток с редуцированным содер-

жением переключенных В-лимфоцитов памяти, отсутствием плазматических клеток, без значимого Т-клеточного дефицита, что в совокупности с агаммаглобулинемией напоминает ОВИН-фенотип. Агаммаглобулинемия не является критерием исключения у пациентов с АЛПС, и в литературе встречаются редкие описания подобных клинических феноменов, тем не менее нельзя исключить дополнительный генетический дефект, способствующий развитию подобной симптоматики. Такие пациенты будут нуждаться в добавочной терапевтической опции помимо патогенетического лечения сиролимузом, а именно в проведении заместительной терапии ВВИГ, поскольку сиролимус не нивелирует В-клеточный дефицит, но может способствовать нормализации Т-клеточного репертуара.

Таким образом, у пациентов с доброкачественной длительно существующей лимфопрлиферацией необходимо выполнять скрининговые исследования для исключения АЛПС (анализ ДНТ-клеток, цианокобаламина сыворотки крови), а также оценивать показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета в целях определения необходимых терапевтических опций до генетического подтверждения диагноза, которое должно быть выполнено в обязательном порядке у пациентов с ПИД, учитывая выраженную вариабельность клинических проявлений при одном и том же генетическом дефекте.

Литература

- Teachey D.T., Seif A.E., Grupp S.A. Advances in the management and understanding of autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS). *Br J Haematol* 2010; 148 (2): 205–16.
- Sneller M.C., Wang J., Dale J.K., Strober W., Middleton L.A., Choi Y., et al. Clinical, immunologic, and genetic features of an autoimmune lymphoproliferative syndrome associated with abnormal lymphocyte apoptosis. *Blood* 1997; 89 (4): 1341–8.
- Dowdell K.C., Niemela J.E., Price S., Davis J., Hornung R.L., Oliveira J.B., et al. Somatic FAS mutations are common in patients with genetically undefined autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Blood* 2010; 115 (25): 5164–9.
- Oliveira J.B., Bleesing J.J., Dianzani U., Fleisher T.A., Jaffe E.S., Lenardo M.J., et al. Revised diagnostic criteria and classification for the autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS): report from the 2009 NIH International Workshop. *Blood* 2010; 116 (14): e35–40.
- Holzelova E., Vonarbourg C., Stolzenberg M.C., Arkwright P.D., Selz F., Prieur A.M., et al. Autoimmune lymphoproliferative syndrome with somatic FAS mutations. *N Engl J Med* 2004; 351: 1409–18.
- Швец О.А., Дерипапа Е.В., Захарова В.В., Абрамов Д.С., Деордиева Е.А., Викторова Е.А. и др. Клинико-лабораторные особенности пациентов с аутоиммунным лимфопрлиферативным синдромом. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2017; 16 (4): 27–34.
- Del-Rey M., Ruiz-Contreras J., Bosque A., Calleja S., Gomez-Rial J., Roldan E., et al. A homozygous FAS ligand gene mutation in a patient causes a new type of autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Blood* 2006; 108: 1306.
- Wang J., Zheng L., Lobito A., Chan F.K.-M., Dale J., Sneller M., et al. Inherited human caspase 10 mutations underlie defective lymphocyte and dendritic cell apoptosis in autoimmune lymphoproliferative syndrome type II. *Cell* 1999; 98: 47.
- 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 Experts. *J Clin Immunol* 2020; 40: 24–64.
- Швец О.А., Дерипапа Е.В., Абрамова И.Н., Викторова Е.А., Родина Ю.А., Деордиева Е.А. и др. Эффективность сиролимуза в терапии аутоиммунного лимфопрлиферативного синдрома. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2018; 17 (1): 46–53.
- Green D.R., Droin N., Pinkoski M. Activation-induced cell death in T-cells. *Immunol Rev* 2003; 193: 70–81.
- Matson D.R., Yang D.T. Autoimmune Lymphoproliferative syndrome. *Arch Pathol Lab Med* 2020; 144 (2): 245–51.
- Volkl S., Rensing-Ehl A., Allgauer A., Schreiner E., Lorenz M.R., Rohr J., et al. Hyperactive mTOR pathway promotes

- lymphoproliferation and abnormal differentiation in autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Blood* 2016; 128 (2): 227–38.
14. Fisher G.H., Rosenberg F.J., Straus S.E., Dale J.K., Middleton L.A., Lin A.Y., et al. Dominant interfering Fas gene mutations impair apoptosis in a human autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Cell* 1995; 81 (6): 935–46.
 15. Fleisher T.A., Oliveira J.B. Monogenic defects in lymphocyte apoptosis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012; 12 (6): 609–15.
 16. Швец О.А. Аутоиммунный лимфопролиферативный синдром у детей: стратегия диагностики и лечения на основе клинико-генетической характеристики. Дис. ... канд. мед. наук. М.; 2018. http://www.fnkc.ru/diss-sovet/dissday/shvets_o/diss.pdf
 17. Neven B., Magerus-Chatinet A., Florkin B., Gobert D., Lambotte O., De Somer L., et al. A survey of 90 patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome related to TNFRSF6 mutation. *Blood* 2011; 118: 4798–807.
 18. Hauck F., Magerus-Chatinet A., Vicca S., Rensing-Ehl A., Roesen-Wolff A., Roesler J., et al. Somatic loss of heterozygosity, but not haploinsufficiency alone, leads to full-blown autoimmune lymphoproliferative syndrome in 1 of 12 family members with FAS start codon mutation. *Clin. Immunol* 2013; 147 (1): 61–8.
 19. Kanegane H., Vilela M.M., Wang Y., Futatani T., Matsukura H., Miyawaki T. Autoimmune lymphoproliferative syndrome presenting with glomerulonephritis. *Pediatr Nephrol* 2003; 18 (5): 454–6.
 20. Mu K., Zhang J., Gu Y., Li H., Wang H. Autoimmune lymphoproliferative syndrome with *Cryptococcus* infection. *J Clin Immunol* 2019; 39 (7): 77–9.
 21. Oksenhendler E., Spaan A.N., Neven B., Stolzenberg M.-C., Fusaro M., Casanova J.-L. Autoimmune lymphoproliferative syndrome presenting with invasive *Streptococcus pneumoniae* infection. *J Clin Immunol* 2020; 40 (3): 543–6.
 22. Neven B., Bruneau J., Stolzenberg M.-C., Meyts I., Magerus-Chatinet A., Moens L., et al. Defective anti-polysaccharide response and splenic marginal zone disorganization in ALPS patients. *Blood* 2014; 124 (10): 1597–609.
 23. Price S., Shaw P.A., Seitz A., Joshi G., Davis J., Niemela J.E., et al. Natural history of autoimmune lymphoproliferative syndrome associated with FAS gene mutations. *Blood* 2014; 123 (13): 1989–99.
 24. Aspinall A., Pinto A., Auer I.A., Bridges P., Luidier J., Dimnik L., et al. Identification of new Fas mutations in a patient with autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS) and eosinophilia. *Blood Cells Mol Dis* 1999; 25 (3–4): 227–38.
 25. Kim Y.-J., Dale J.K., Noel P., Brown M.R., Nutman T.B., Straus S.E., et al. Eosinophilia is associated with a higher mortality rate among patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Am J Hematol* 2007; 82 (7): 615–24.
 26. ESID Registry – Working Definitions for Clinical Diagnosis of PID. Available at: http://esid.org/Working_Parties/Registry/Diagnosis_criteria.
 27. Bleesing J.J., Brown M.R., Straus S.E., Dale J.K., Seigel R.M., Johnson M., et al. Immunophenotypic profiles in families with autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Blood* 2001; 98 (8): 2466–73.
 28. Chun H.J., Zheng L., Ahmad M., Wang J., Speirs C.K., Seigel R.M., et al. Pleiotropic defects in lymphocyte activation caused by caspase-8 mutations lead to human immunodeficiency. *Nature* 2002; 419 (6905): 395–9.
 29. Rieux-Laucat F., Blachère S., Danielan S., De Villartay J.P., Oleastro M., Solary E., et al. Lymphoproliferative syndrome with autoimmunity: A possible genetic basis for dominant expression of the clinical manifestations. *Blood* 1999; 94 (8): 2575–82.
 30. Rensing-Ehl A., Warnatz K., Fuchs S., Schlesier M., Salzer U., Draeger R., et al. Clinical and immunological overlap between autoimmune lymphoproliferative syndrome and common variable immunodeficiency. *Clin Immunol* 2010; 137 (3): 357–65.
 31. Narra M.B., Abdou N.I. Autoimmune lymphoproliferative syndrome in a patient with common variable immunodeficiency: dichotomy of apoptosis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2007; 98 (6): 585–8.
 32. Bonilla F.A., Barlan I., Chapel H., Costa-Carvalho B.T., Cunningham-Rundles C., de la Moren M.T., et al. International Consensus Document (ICON): Common variable immunodeficiency disorders. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2016; 4: 38–59.
 33. Picard C., Bobby Gaspar H., Al-Herz W., Bousfiha A., Casanova J.-L., Chatila T., et al. International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol* 2018; 38: 96–128.
 34. Berglund L.J., Wong S.W.J., Fulcher D.A. B-cell maturation defects in common variable immunodeficiency and association with clinical features. *Pathology* 2008; 40 (3): 288–94.
 35. Seidel M.G., Kindle G., Gathmann B., Quinti I., Buckland M., van Montfrans J., et al. The European Society for Immunodeficiencies (ESID) Registry Working Definitions for the Clinical Diagnosis of Inborn Errors of Immunity. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019; 7 (6): 1763–70.
 36. Bogaert D.J., Dullaers M., Lambrecht B.N., Vermaelen K.Y., De Baere E., Haerynck F. Genes associated with common variable immunodeficiency: one diagnosis to rule them all? *J Med Genet* 2016; 53: 575–90.
 37. de Valles-Ibanez G., Esteve-Sole A., Piquer M., González-Navarro E.A., Hernandez-Rodriguez J., Laayouni H., et al. Evaluating the genetics of common variable immunodeficiency: monogenetic model and beyond. *Front Immunol* 2018; 9: 636.
 38. van Montfrans J.M., Hoepelman A.I., Otto S., van Gijn M., van de Corput L., de Weger R.A., et al. CD27 deficiency is associated with combined immunodeficiency and persistent symptomatic EBV viremia. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: 787–93.
 39. Castigli E., Wilson S.A., Garibyan L., Rachid R., Bonilla F., Schneider L., Geha R.S. TACI is mutant in common variable immunodeficiency and IgA deficiency. *Nat Genet* 2005; 37: e829–34.
 40. Salzer U., Chapel H.M., Webster A.D., Pan-Hammarström Q., Schmitt-Graeff A., Schlesier M., et al. Mutations in TNFRSF13B encoding TACI are associated with common variable immunodeficiency in humans. *Nat Genet* 2005; 37: 820–8.
 41. Tuijnenburg P., Lango Allen H., Burns S.O., Greene D., Jansen M.H., Staples E., et al. Loss-of-function nuclear factor kappaB subunit 1 (NFKB1) variants are the most common monogenic cause of common variable immunodeficiency in Europeans. *J Allergy Clin Immunol* 2018; 142 (4): 1285–96.
 42. Chen K., Coonrod E.M., Kumanovics A., Franks Z.F., Durtschi J.D., Margraf R.L., et al. Germline mutations in NFKB2 implicate the noncanonical NF-kappaB pathway in the pathogenesis of common variable immunodeficiency. *Am J Hum Genet* 2013; 93: 812–24.
 43. Angulo I., Vadas O., Garçon F., Banham-Hall E., Plagnol V., Leahy T.R., et al. Phosphoinositide 3-kinase delta gene mutation predisposes to respiratory infection and airway damage. *Science* 2013; 342: 866–71.
 44. Lucas C.L., Kuehn H.S., Zhao F., Niemela J.E., Deenick E.K., Palendira U., et al. Dominant-activating germline mutations in the gene encoding the PI(3)K catalytic subunit p110delta result in T cell senescence and human immunodeficiency. *Nat Immunol* 2014; 15: 88–97.
 45. Rae W. Indications to Epigenetic Dysfunction in the Pathogenesis of Common Variable Immunodeficiency. *Arch Immunol Ther Exp* 2017; 65: 101–10.
 46. Rodriguez-Cortez V.C., Del Pino-Molina L., Rodriguez-Ubrea J., Ciudad L., Gomez-Cabrero D., Company C., et al. Monozygotic twins discordant for common variable immunodeficiency reveal impaired DNA demethylation during naive-to-memory B-cell transition. *Nature communications* 2015; 6: 7335.

47. Heo J.B., Lee Y.S., Sung S. Epigenetic regulation by long noncoding RNAs in plants. *Chromosome Res* 2013; 21 (6–7): 685–93.
48. Patuzzo G., Barbieri A., Tinazzi E., Veneri D., Argentino G., Moretta F., et al. Autoimmunity and infection in common variable immunodeficiency (CVID). *Autoimmun Rev* 2016; 15: 877–82.
49. Chapel H., Lucas M., Lee M., Bjorkander J., Webster D., Grimbacher B., et al. Common variable immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes. *Blood* 2008; 112: 277–86.
50. Gathmann B., Mahlaoui N., Ceredih, Gérard L., Oksenhendler E., Warnatz K., et al. Clinical picture and treatment of 2212 patients with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134: 116–26.
51. Wehr C., Kivioja T., Schmitt C., Ferry B., Witte T., Eren E., et al. The EUROclass trial: defining subgroups in common variable immunodeficiency. *Blood* 2008; 111: 77–85.
52. Resnick E.S., Moshier E.L., Godbold J.H., Cunningham-Rundles C. Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades. *Blood* 2012; 119: 1650–7.
53. Abolhassani H., Amirhashani D., Parvaneh N., Mohammadinejad P., Gharib B., Shahinpour S., et al. Autoimmune phenotype in patients with common variable immunodeficiency. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2013; 23: 323–9.
54. Ramirez-Vargas N., Arabin-Oropeza S.E., Mojica-Martinez D., Yamazaki-Nakashimada M.A., de la Luz García-Cruz M., Terán-Juárez L.M., et al. Clinical and immunological features of common variable immunodeficiency in Mexican patients. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2014; 42: 235–40.
55. Xiao X., Miao Q., Chang C., Gershwin M.E., Ma X. Common variable immunodeficiency and autoimmunity: an inconvenient truth. *Autoimmun Rev* 2014; 13: 858–64.
56. Megna M., Pecoraro A., Balato N., Villani A., Crescenzi L., Balato A., Spadaro G. Psoriasis in a cohort of patients with common variable immunodeficiency. *Br J Dermatol* 2019; 180: 935–6.
57. Kiaee F., Azizi G., Rafiemanesh H., Zainaldain H., Sadaat Rizvi F., et al. Malignancy in common variable immunodeficiency: a systematic review and meta-analysis. *Expert Rev Clin Immunol* 2019; 15 (10): 1105–13.
58. Carter C.R., Aravind G., Smalle N.L., Cole J.Y., Savic S., Wood P.M. CVID patients with autoimmunity have elevated T cell expression of granzyme B and HLA-DR and reduced levels of Treg cells. *J Clin Pathol* 2013; 66: 146–50.
59. Warnatz K., Voll R.E. Pathogenesis of autoimmunity in common variable immunodeficiency. *Front Immunol* 2012; 3: 210.
60. Farrokhi A.S., Aghamohammadi A., Pourhamdi S., Mohammadinejad P., Abolhassani H., Moazzeni S.M. Evaluation of class switch recombination in B lymphocytes of patients with common variable immunodeficiency. *J Immunol Methods* 2013; 394: 94–9.
61. Agarwal S., Cunningham-Rundles C. Autoimmunity in Common Variable Immunodeficiency. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2019; 123: 454–60.
62. Baldovino S., Montin D., Martino S., Sciascia S., Menegatti E., Roccatello D. Common variable immunodeficiency: crossroads between infections, inflammation and autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2013; 12 (8): 796–801.
63. Richardson C.T., Slack M.A., Dhillon G., Marcus C.Z., Barnard J., Palanichamy A., et al. Failure of B Cell Tolerance in CVID. *Front Immunol* 2019; 10: 2881.
64. Caminha I., Fleisher T.A., Hornung R.L., Dale J.K., Niemela J.E., Price S., et al. Using biomarkers to predict the presence of FAS mutations in patients with features of the autoimmune lymphoproliferative syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 946–9.
65. Roberts C.A., Ayers L., Bateman E.A.L., Sadler R., Magerus-Chatinet A., Rieux-Laucat F., et al. Investigation of common variable immunodeficiency patients and healthy individuals using autoimmune lymphoproliferative syndrome biomarkers. *Hum Immunol* 2013; 74 (12): 1531–5.
66. Salehzadeh M., Aghamohammadi A., Rezaei N. Evaluation of immunoglobulin levels and infection rate in patients with common variable immunodeficiency after immunoglobulin replacement therapy. *Microbiol Immunol Infect* 2010; 43 (1): 11–7.
67. Gardulf A., Abolhassani H., Gustafson R., Eriksson L.E., Hammarstrom L. Predictive markers for humoral influenza vaccine response in patients with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2018; 142 (6): 1922–31.
68. Wehr C., Gennery A.R., Lindemans C., Schulz A., Hoenig M., Marks R., et al. Multicenter experience in hematopoietic stem cell transplantation for serious complications of common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135: 988–97.
69. Rao V.K., Oliveira J.B. How I treat autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Blood* 2011; 118 (22): 5741–51.
70. Bleesing J.J., Straus S.E., Fleisher T.A. Autoimmune lymphoproliferative syndrome. A human disorder of abnormal lymphocyte survival. *Pediatr Clin North Am* 2000; 47 (6): 1291–310.
71. Teachey D.T., Greiner R., Seif A., Attiyeh E., Bleesing G., Choi J., et al. Treatment with sirolimus results in complete responses in patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Br J Haematol* 2009; 145 (1): 101–6.
72. Klemann C., Esquivel M., Magerus-Chatinet A., Lorenz M.R., Fuchs I., Neveux N., et al. Evolution of disease activity and biomarkers on and off rapamycin in 28 patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Haematologica* 2017; 102 (2): e52–6.
73. Rubin L.G., Levin M.J., Ljungman P., Davies E.G., Avery R., Tomblyn M., et al. 2013 IDSA clinical practice guideline for vaccination of the immunocompromised host. *Clin Infect Dis* 2014; 58 (3): 309–18.
74. Hammerquist R.J., Messerschmidt K.A., Pottebaum A.A., Hellwig T.R. Vaccinations in asplenic adults. *Am J Health Syst Pharm* 2016; 73 (9): e220–8.
75. Sleight B.J., Prasad V.C., DeLaat C., Steele P., Ballard E., Arcenci R.J., et al. Correction of autoimmune lymphoproliferative syndrome by bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22 (4): 375–80.
76. Benkerrou M., Le Deist F., de Villartay J.P., Caillat-Zucman S., Rieux-Laucat F., Jabado N., et al. Correction of Fas (CD95) deficiency by haploidentical bone marrow transplantation. *Eur J Immunol* 1997; 27 (8): 2043–7.

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 31.08.2020
Принята к печати 15.10.2020

Контактная информация:

Алиева Фатима Сайцилиновна, врач-детский онколог, врач-гематолог, магистрант кафедры детских болезней №2 НАО «Медицинский университет Астана»
Адрес: Республика Казахстан, 010000, Нур-Султан, ул. Бейбитшилик, 49А
E-mail: saytsilinovna@gmail.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-180-183

Причины перевода и смертности у детей с онкогематологическими заболеваниями, поступивших в отделение интенсивной терапии

Ф.С. Алиева¹, М.С. Мулдаметов¹, Б.К. Нурмагамбетова²

¹НАО «Медицинский университет Астана», Республика Казахстан, Нур-Султан

²КФ «УМС» Национальный научный центр материнства и детства, Республика Казахстан, Нур-Султан

За последние несколько десятилетий показатели выживаемости детей с онкогематологическими заболеваниями значительно улучшились благодаря потенциально излечивающим протоколам химиотерапии, расширению биологических знаний и инновационным методам лечения. Однако педиатрические онкогематологические пациенты относятся к группе высокого риска по быстрому клиническому ухудшению вследствие множества факторов, таких как тяжесть основного состояния, токсичность вмешательств и связанная с ними иммуносупрессия. Использование агрессивной тактики терапии онкогематологических заболеваний у детей также связано с осложнениями и опасными для жизни событиями, которые приводят к поступлению в педиатрические отделения реанимации и интенсивной терапии. Исторически эти дети считались плохими кандидатами на интенсивную терапию. Дискуссии вокруг перевода детей с онкогематологическими заболеваниями в отделения реанимации и интенсивной терапии и ожидаемый прогноз, вызывали сложные и деликатные вопросы, особенно с этической точки зрения. Несмотря на общую тенденцию к улучшению выживаемости, смертность в отделениях реанимации и интенсивной терапии среди детей с онкогематологическими заболеваниями, к сожалению, высока и в отличие от взрослых пациентов остается относительно неизменной в течение последних десятилетий. Эти данные подчеркивают необходимость исследований в этой группе пациентов.

Ключевые слова: дети, онкогематология, онкология, рак у детей, интенсивная терапия, детская реанимация, исход, смертность

Алиева Ф.С., и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 180–183. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-180-183

Causes of transfer and mortality in children with oncohematological diseases admitted to the intensive care unit

F.S. Aliyeva¹, M.S. Muldahmetov¹, B.K. Nurmagambetova²

¹Astana Medical University, Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan

²National Research Center for Maternal and Child Health of the University Medical Center (UMC), Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan

The last few decades survival rates of children with hematologic malignancies have improved significantly, due to a potentially curative chemotherapy protocols, the expansion of biological knowledge and innovative methods of therapy. However oncohematological pediatric patients are at high risk for rapid clinical deterioration due to numerous factors such as the severity of the underlying condition, interventions toxicity and associated immunosuppression. Using aggressive tactics of therapy with oncohematological diseases in children is also associated with complications and life-threatening events that lead to admission to the pediatric intensive care unit. Historically, these children have been considered as poor candidates for intensive care. Discussions around the transfer of children with hematological malignancies to intensive care units and also the expected prognosis raised complicate and delicate questions, especially from an ethical point of view. Despite the general tendency of improved survival rate, mortality in the intensive care unit on hematological malignancies children, unfortunately, is still high and, in comparison to adults, has remained relatively invariable over the past decades. These findings highlight the necessity for research in this group of patients.

Key words: children, oncohematology, oncology, pediatric cancer, intensive care, PICU, outcome, mortality

Aliyeva F.S., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 180–183. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-180-183

Неотложные состояния у пациентов с онкогематологическими заболеваниями представляют собой широкий спектр состояний, которые могут возникнуть в любое время в течение патологического процесса: от дебюта заболевания до конечной стадии неизлечимой метастатической болезни [1]. Несмотря на то, что диагноз онкогематологических заболеваний в детском возрасте является относительно редким с ежегодной заболеваемостью, достигающей 165 случаев на 1 млн [2], он остается

основной причиной смерти в детской популяции, составляя примерно 10% всех детских смертельных случаев [3]. С 1970 г. показатели выживаемости у детей с онкогематологическими заболеваниями увеличились с 45 до 80% [4]. Это было достигнуто благодаря доступности новых методов лечения и терапевтических стратегий, а также оперативной диагностике и усилению поддерживающей терапии. Вместе с тем применение агрессивных схем лечения способствует повышенному риску возникновения

Correspondence:
Fatima S. Aliyeva, a pediatric oncologist, a hematologist, a graduate student at the Department of Children's Diseases №2, Astana Medical University
Address: 49A Beybitshilik St., Nur-Sultan, 010000, the Republic of Kazakhstan
E-mail: saytsilinovna@gmail.com

неотложных состояний, угрожающих жизни, как вследствие основного заболевания, так и от проводимой терапии [5].

Согласно исследованиям, до 38% детей с онкогематологическими заболеваниями требуют госпитализации в отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), при этом зарегистрированная смертность в отделениях составляет 13–27%, намного превышая смертность среди общей популяции педиатрических пациентов [6]. По разным данным, от 12 до 30% детей были приняты в ОРИТ из-за серьезных осложнений, связанных с проводимой терапией [7–9]. Согласно проведенному анализу, на долю специфических осложнений вследствие полихимиотерапии приходится лишь 10–20%, в то время как доля предотвратимых инфекционных осложнений, дыхательной недостаточности и метаболических нарушений составляет от 30 до 60% [8–10].

Дети с онкогематологическими заболеваниями, нуждающиеся в интенсивной терапии, представляют собой очень сложную группу пациентов со значительно худшими результатами терапии по сравнению с общей популяцией детей [11]. По результатам поиска в электронных базах данных PubMed, Web of Science, Medline, Taylor & Francis Group, в базах данных издательств “John Wiley & Sons”, “Springer”, “Elsevier”, eLIBRARY.RU и др. исследовательских работ, посвященных изучению данного вопроса катастрофически мало, в русскоязычном сегменте они практически отсутствуют. К тому же значительная часть из них опубликована более 10–15 лет назад. Эти данные подтверждает единственный на сегодняшний день проведенный систематический обзор и метаанализ по данной теме [12]. Ввиду того, что некоторые из работ являются фундаментальными по изучению данного вопроса, несмотря на давность публикаций, не отобразить полученные результаты в данном обзоре считается некорректным.

Основные причины поступления детей с онкогематологическими заболеваниями в ОРИТ приведены в таблице [13], сепсис и дыхательная недостаточность ответственны примерно за две трети нехирургических причин поступления в ОРИТ [10, 14–16].

На смертность детей с онкогематологическими заболеваниями в первую очередь влияют причины перевода в ОРИТ (хирургические или нехирургические). Дети, поступившие в ОРИТ в послеоперационный период, имеют очень низкий уровень смертности (0–4%) [7, 11, 16]. Поскольку данный показатель не отличается от такового среди детей общей популяции без онкогематологических заболеваний, поступающих в ОРИТ, хирургические причины перевода исключены из анализа в большинстве проведенных исследований. Смертность от нехирургических причин перевода в ОРИТ намного

выше. Большое многоцентровое исследование H.J. Dalton и соавт. ($n = 802$) продемонстрировало 13,3% смертности среди детей с онкогематологическими заболеваниями, поступивших по нехирургическим причинам (30/226) [11]. В одноцентровых исследованиях с меньшей выборкой, в которых были проанализированы дети, поступившие в ОРИТ в 2000-е годы, сообщается о смертности в диапазоне от 15 до 20% [15, 23]. Эти результаты хотя и выше, чем уровень смертности среди общей популяции детей, поступающих в ОРИТ, тем не менее обнадеживают по сравнению с 50% уровнем смертности, о котором сообщалось в 1980-е годы [10].

Как и в общей популяции детей, поступающих в ОРИТ, степень полиорганной недостаточности систематически связана с прогнозом. Смертность превышает 70%, если задействованы 3 или более систем органов и тканей [7, 16, 19, 23]. Использование искусственной вентиляции легких и/или инотропной поддержки, связанной с дыхательной и/или сердечно-сосудистой недостаточностью, явля-

Таблица

Причины поступления в ОРИТ детей с онкогематологическими заболеваниями

Table

Reasons for intensive care unit (ICU) admission in children with oncological and hematological diseases

Причина Reason	Дети с онкогематологическими заболеваниями Children with oncological and hematological diseases	
	без ТГСК without HSCT	после ТГСК after HSCT
Послеоперационная помощь (% от госпитализации в ОРИТ) Postoperative care (% of total ICU admissions)	72% [11]	4–16% [17, 18]
Нехирургические причины Non-surgical reasons		
Нарушение дыхания Respiratory dysfunction	26–58% [7, 15, 16, 19]	33–88% [18, 20–22]
Компрессия дыхательных путей* (% от дыхательной недостаточности) Airway compression* (% of respiratory insufficiency cases)	0–48% [7, 16, 19]	0% [18, 20–22]
Заболевание легких (% от дыхательной недостаточности) Pulmonary disease (% of respiratory insufficiency cases)	52–100%** [7, 15, 16, 19]	100%*** [18, 20–22]
Тяжелый сепсис/септический шок Severe sepsis/septic shock	8–36% [7, 15, 16, 19, 23]	21–36% [17, 18, 20, 22]
Неврологические нарушения Neurological impairments	10–31% [7, 13, 14, 17, 21]	3–20% [17, 18, 20, 24]
Почечная дисфункция Renal dysfunction	5–15% [7, 15, 19]	5–8% [20, 21, 24]
Синдром острого лизиса опухоли Acute tumor lysis syndrome	5–8% [7, 15]	

Примечание. ТГСК – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; * – указана доля без послеоперационной помощи; ** – сжатие дыхательных путей опухолью или средостенной массой; *** – в том числе бактериальная пневмония, идиопатическая пневмония, облитерирующий бронхолит, легочное кровоизлияние, отек легких.

Note. HSCT – hematopoietic stem cell transplantation; * – the proportion of cases without postoperative care; ** – airway compression by a tumor or a mediastinal mass; *** – including bacterial pneumonia, idiopathic pneumonia syndrome, obliterative bronchiolitis, pulmonary hemorrhage, pulmonary edema.

ется важным прогностическим фактором в определении неблагоприятного исхода [7, 15, 19, 23]. Эти данные также подтверждает R.M. Wösten-van Asperen в проведенном метаанализе, который заключает, что искусственная вентиляция легких (отношение шансов (ОШ): 18,49 (95% доверительный интервал (ДИ) 13,79–24,78), $p < 0,001$), инотропная поддержка (ОШ: 14,05 (95% ДИ 9,16–21,57), $p < 0,001$) и непрерывная заместительная почечная терапия (ОШ: 3,24 (95% ДИ 1,31–8,04), $p < 0,01$) достоверно ассоциировались со смертностью в ОРИТ [12]. Сочетание же данных прогностических факторов связано с худшим прогнозом: смертность достигает 54–100% [11, 16, 19]. Следует отметить, что дети, вентилируемые из-за компрессии дыхательных путей, имеют лучший исход, чем пациенты, перенесшие вентиляцию вследствие заболевания легких [7, 14, 19].

У детей, поступивших в ОРИТ во время диагностики онкогематологического заболевания до начала химиотерапии, прогноз, по-видимому, лучше, чем у детей, поступивших позже (8% против 34%; $p = 0,06$) [7]. Эта разница может быть связана с различиями в причинах госпитализации между этими 2 группами и токсичностью самой химиотерапии.

Некоторые авторы также сообщают, что тип нозологической формы заболевания влияет на смертность детей, поступивших в ОРИТ: у больных с солидными опухолями уровень смертности ниже, чем у пациентов с гематологическими злокачественными новообразованиями [15, 23].

Тенденция смертности с течением времени дает важную информацию о состоянии медицинской помощи для конкретного заболевания или группы пациентов [12]. М. Peters и R. Agbeko показали, что прогнозируемый риск смертности детей с лейкемией или лимфомой за пределами первой ремиссии, поступивших в ОРИТ из-за синдрома полиорганной дисфункции, вызванной сепсисом или острым респираторным дистресс-синдромом, снизился за последние десятилетия [25]. Тем не менее результаты исследования показывают лишь незначительное снижение уровня смертности с течением времени, когда послеоперационные пациенты не включаются в анализ. Повышение выживаемости может быть связано со значительными достижениями в лечении в ОРИТ, такими как введение ранней направленной терапии при сепсисе и протективная вентиляция легких [26, 27]. Кроме того, специфические методы лечения в онкологической практике, а также поддерживающая терапия, значительно улучшились за последние десятилетия. Хотя существуют рекомендации по продвижению этих практик, переменная приверженность может способствовать наблюдаемому отсутствию улучшения фактических результатов лечения в ОРИТ у этих пациентов. Разработка

агрессивных схем лечения онкогематологических заболеваний может повысить требования к терапии в ОРИТ с использованием средств жизнеобеспечения при инфекционных или токсических осложнениях, связанных с химиотерапией. Это может означать, что когорта пациентов с более высоким риском поступает в ОРИТ с течением времени, и поскольку общая помощь в ОРИТ улучшилась, смертность для этих пациентов не увеличилась. Поскольку в большинстве исследований не сообщалось о степени тяжести заболевания, такой как оценка по шкалам PIM или PRISM, однозначно прийти к такому заключению не представляется возможным. К тому же неудивительно, что необходимость лечения в ОРИТ с использованием такого рода техник, как искусственная вентиляция легких, инотропная поддержка, непрерывная заместительная почечная терапия, связаны с повышенной смертностью. Тем не менее смертность в ОРИТ, зависящая от вмешательства, со временем снизилась [12]. Эти результаты согласуются с данными у взрослых пациентов с онкогематологическими заболеваниями в критическом состоянии, у которых смертность за последние годы снизилась [28, 29]. Это может быть связано с улучшением раннего распознавания онкогематологических пациентов в критическом состоянии, быстрым внедрением агрессивных методов лечения в ОРИТ, навыками понимания патофизиологии дисфункции органов в этой группе и лечением неотложных осложнений, связанных со злокачественными новообразованиями. Эти разработки должны бросить вызов педиатрическим реаниматологам и онкологам для достижения тех же целей. Для этой цели необходимо интенсивно сотрудничать детским онкологам и реаниматологам, чтобы получать проспективные данные о результатах терапии, причинах ухудшения состояния и перевода в ОРИТ и чтобы определить факторы риска смертности [12].

В заключение хотелось бы отметить, что смертность в ОРИТ у детей с онкогематологическими заболеваниями, к сожалению, высока и в отличие от взрослых пациентов остается относительно неизменной в течение последних десятилетий. Такие данные подчеркивают необходимость исследований в этой группе пациентов. Данные исследования могут выявить факторы риска клинического ухудшения и эффективные терапевтические вмешательства на этапе нахождения детей в профильных отделениях. Кроме того, результаты данных исследований могут помочь как реаниматологам, так и онкологам в стратификации риска для пациентов в процессе принятия решений о распределении ресурсов ОРИТ и выявить больных, которым может быть полезен более тщательный мониторинг и ранние вмешательства.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Aliyeva F.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0524-498X>

Muldahmetov M.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8389-2061>

Nurmagambetova B.K. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3210-3760>

Литература

- Behl D., Hendrickson A.W., Moynihan T.J. Oncologic Emergencies. *Crit Care Clin* 2010; 26: 181–205.
- Li J., Thompson T.D., Miller J.W., Pollock L.A., Stewart S.L. Cancer incidence among children and adolescents in the United States, 2001–2003. *Pediatrics* 2008; 121 (6).
- Ries L., Melbert D., Krapcho M., Stinchcomb D., Howlander N., Horner M., et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2005, National Cancer Institute. Bethesda, MD [Internet]. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2005, National Cancer Institute. Bethesda, MD; 2008. Available from: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2013
- Linnet M.S., Ries L.A.G., Smith M.A., Tarone R.E., Devesa S.S. Cancer surveillance series: Recent trends in childhood cancer incidence and mortality in the United States. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91 (12): 1051–8.
- Handa A., Nozaki T., Makidono A., Okabe T., Morita Y., Fujita K., et al. Pediatric oncologic emergencies: Clinical and imaging review for pediatricians. *Pediatrics International*. Blackwell Publishing 2019; 61: 122–39.
- Zinter M.S., DuBois S.G., Spicer A., Matthay K., Sapru A. Pediatric cancer type predicts infection rate, need for critical care intervention, and mortality in the pediatric intensive care unit. *Intensive Care Med* 2014; 40 (10): 1536–44.
- Heying R., Schneider D.T., Körholz D., Stannigel H., Lemburg P., Göbel U. Efficacy and outcome of intensive care in pediatric oncologic patients. *Crit Care Med* 2001; 29 (12): 2276–80.
- van Veen A., Karstens A., van der Hoek A.C.J., Tibboel D., Hählen K., van der Voort E. The prognosis of oncologic patients in the pediatric intensive care unit. *Intensive Care Med* 1996; 22 (3): 237–41.
- Khan Sial G.Z., Khan S.J. Pediatric Cancer Outcomes in an Intensive Care Unit in Pakistan. *J Glob Oncol* 2019; 5 (5): 1–5.
- Heney D., Lewis I.J., Lockwood L., Cohen A.T., Bailey C.C. The intensive care unit in paediatric oncology. *Arch Dis Child* 1992; 67 (3): 294–8.
- Dalton H.J., Slonim A.D., Pollack M.M. MultiCenter outcome of pediatric oncology patients requiring intensive care. *Pediatr Hematol Oncol* 2003; 20 (8): 643–9.
- Wösten-van Asperen R.M., van Gestel J.P.J., van Grotel M., Tschiedel E., Dohna-Schwake C., Valla F.V., et al. PICU mortality of children with cancer admitted to pediatric intensive care unit: a systematic review and meta-analysis [Internet]. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. Elsevier Ireland Ltd 2019; 142: 153–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31404827/>.
- Demaret P., Pettersen G., Hubert P., Teira P., Emeriaud G. The critically-ill pediatric hemato-oncology patient: Epidemiology, management, and strategy of transfer to the pediatric intensive care unit [Internet]. *Annals of Intensive Care*. Springer Verlag 2012; 2: 14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23066666/>
- Hallahan A.R., Shaw P.J., Rowell G., O'Connell A., Schell D., Gillis J. Improved outcomes of children with malignancy admitted to a pediatric intensive care unit. *Crit Care Med* 2000; 28 (11): 3718–21.
- Owens C., Mannion D., O'Maricaigh A., Waldron M., Butler K., O'Meara A. Indications for admission, treatment and improved outcome of paediatric haematology/oncology patients admitted to a tertiary paediatric ICU. *Ir J Med Sci* 2011; 180 (1): 85–9.
- Dursun O., Hazar V., Karasu G.T., Uygün V., Tosun O., Yesilipek A. Prognostic factors in pediatric cancer patients admitted to the pediatric intensive care unit. *J Pediatr Hematol Oncol* 2009; 31 (7): 481–4.
- Jacobe S.J., Hassan A., Veys P., Mok Q. Outcome of children requiring admission to an intensive care unit after bone marrow transplantation. *Crit Care Med* 2003; 31 (5): 1299–305.
- Cheuk D.K.L., Ha S.Y., Lee S.L., Chan G.C.F., Tsoi N.S., Lau Y.L. Prognostic factors in children requiring admission to an intensive care unit after hematopoietic stem cell transplant. *Hematol Oncol* 2004; 22: 1–9.
- Ben A.R., Toren A., Ono N., Weinbroum A.A., Vardi A., Barzilay Z., et al. Predictors of outcome in the pediatric intensive care units of children with malignancies. *J Pediatr Hematol Oncol* 2002; 24 (1): 23–6.
- González-Vicent M., Marín C., Madero L., Sevilla J., Díaz M.A. Risk score for pediatric intensive care unit admission in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation and analysis of predictive factors for survival. *J Pediatr Hematol Oncol* 2005; 27 (10): 526–31.
- Díaz M.A., Vicent M.G., Prudencio M., Rodríguez F., Marín C., Serrano A., et al. Predicting factors for admission to an intensive care unit and clinical outcome in pediatric patients receiving hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 2002; 87 (3): 292–8.
- Tomaske M., Bosk A., Eyrich M., Bader P., Niethammer D. Risks of mortality in children admitted to the paediatric intensive care unit after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2003; 121 (6): 886–91.
- Meyer S., Gottschling S., Biran T., Georg T., Ehlayil K., Graf N., et al. Assessing the risk of mortality in paediatric cancer patients admitted to the paediatric intensive care unit: A novel risk score? *Eur J Pediatr* 2005; 164 (9): 563–7.
- Lamas A., Otheo E., Ros P., Vázquez J.L., Maldonado M.S., Muñoz A., et al. Prognosis of child recipients of hematopoietic stem cell transplantation requiring intensive care. *Intensive Care Med* 2003; 29 (1): 91–6.
- Peters M.J., Agbeko R.S. Optimism and no longer foolishness? *Haematology/Oncology and the PICU. Intensive Care Med* 2014; 40: 1589–91.
- Rhodes A., Evans L.E., Alhazzani W., Levy M.M., Antonelli M., Ferrer R., et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med* 2017; 43 (3): 304–77.
- Kneyber M.C.J., de Luca D., Calderini E., Jarreau P.H., Javouhey E., Lopez-Herce J., et al. Recommendations for mechanical ventilation of critically ill children from the Paediatric Mechanical Ventilation Consensus Conference (PEMVECC). *Intensive Care Med* 2017; 1764–80.
- Shimabukuro-Vornhagen: Critical care of patients. [Internet]. Available from: https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Critical+care+of+patients+with+cancer&publication_year=2016&author=A.+Shimabukuro-Vornhagen&author=B.+Böll&author=M.+Kochanek&author=É.+Azoulay&author=M.S.+von+Bergwelt-Baildon
- Azoulay E., Mokart D., Pène F., Lambert J., Kouatchet A., Mayaux J., et al. Outcomes of critically ill patients with hematologic malignancies: Prospective multicenter data from France and Belgium-A groupe de recherche respiratoire en réanimation onco-hématologique study. *J Clin Oncol*. 2013; 31 (22): 2810–8.

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 21.09.2020
Принята к печати 02.02.2021

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-184-191

Тромбоциты при COVID-19: «случайные прохожие» или соучастники?

О.И. Ан^{1, 2}, А.А. Мартыанов²⁻⁵, М.Г. Степанян^{2, 4}, А.Е. Болдова^{2, 4}, С.А. Румянцев⁶,
М.А. Пантелеев²⁻⁴, Ф.И. Атауллаханов²⁻⁴, А.Г. Румянцев³, А.Н. Свешникова¹⁻⁴

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

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

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

⁴ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва

⁵ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН, Москва

⁶ФГБУЗ Больница Российской академии наук (г. Троицк), Москва, Троицк

Контактная информация:

Анастасия Никитична Свешникова,
заведующая лабораторией
внутриклеточной сигнализации
и системной биологии ФГБУН «Центр
теоретических проблем физико-
химической фармакологии» РАН
Адрес: 109029, Москва,
ул. Средняя Калитниковская, 30
E-mail: a.sveshnikova@physics.msu.ru

Одной из наиболее опасных особенностей новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, является склонность системы гемостаза больных к избыточному тромбообразованию. Среди возможных причин данной патологии выделяют как активацию эндотелиоцитов сосудов, приводящую к выставлению тканевого фактора этими клетками, так и активацию плазменного звена гемостаза. Кроме того, показано, что при SARS-CoV-2 наблюдается значительное изменение функциональных ответов тромбоцитов на активацию, которое, однако, не сопровождается значительной тромбоцитопенией. Механизм влияния на функциональность и количество тромбоцитов представляется достаточно противоречивым. С одной стороны, существуют предположения, что тромбоциты могут выступать непосредственным «контейнером» для вируса, распространяя по организму. С другой стороны, наличие вирусной РНК в тромбоцитах было продемонстрировано только в одном исследовании, тогда как другие авторы получили обратный результат. Еще одним механизмом непосредственного воздействия вируса на тромбоциты является его проникновение в мегакариоциты и последующее нарушение тромбоцитопоэза. Тем не менее в 3 из 4 опубликованных на настоящий момент работ показано, что тромбоциты пациентов с SARS-CoV-2 находятся в активированном состоянии (так называемая подактивация тромбоцитов). Это явление может быть вызвано как прямым влиянием вируса, так и влиянием на функции тромбоцитов идущего в легких процесса. В настоящем обзоре мы рассматриваем существующие данные и возможные причины изменения функциональности тромбоцитов, наблюдаемого у пациентов с SARS-CoV-2.

Ключевые слова: тромбоциты, тромбоцитопения, SARS-CoV-2, COVID-19, вирусная инфекция, нарушение функции тромбоцитов, тромбовоспаление

Ан О.И. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 184–191.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-184-191

Platelets in COVID-19: “innocent by-standers” or active participants?

O.I. An^{1, 2}, A.A. Martyanov²⁻⁵, M.G. Stepanyan^{2, 4}, A.E. Boldova^{2, 4}, S.A. Rumyantsev⁶, M.A. Panteleev²⁻⁴,
F.I. Ataullakhanov²⁻⁴, A.G. Rumyantsev³, A.N. Sveshnikova¹⁻⁴

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

²Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, RAS, Moscow

³Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

⁴Lomonosov Moscow State University, Moscow

⁵N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, RAS, Moscow

⁶Hospital of the Russian Academy of Sciences (Troitsk), Moscow, Troitsk

One of the most dangerous features of the new coronavirus infection caused by the SARS-CoV-2 virus is the tendency of the hemostasis system of patients to excessive thrombus formation. Among the possible causes of this pathology, both the activation of vascular endothelial cells, leading to the exposure of tissue factor by these cells, and direct activation of the plasma hemostasis were named. Besides, there is a significant change in platelet responses to activation, which is not accompanied by significant thrombocytopenia. The mechanism of platelet dysfunction is rather controversial. On the one hand, there are suggestions that platelets can act as a direct “container” for the virus, thus spreading it throughout the body. On the other hand, the presence of viral RNA in platelets has been demonstrated in only one study, while other authors have obtained the opposite result. Another mechanism of the virus’s direct effect on platelets is the penetration of the virus into megakaryocytes and the subsequent violation of thrombocytopoiesis. However, three of the four published works show that platelets from patients with SARS-CoV-2 are in an activated state (the so-called platelet pre-activation). This phenomenon can be caused by the direct influence of the virus and the effect of thromboinflammation in the lungs on platelet functions. Here we review the known data and possible causes of the platelet functionality changes observed in patients with SARS-CoV-2.

Key words: platelets, thrombocytopenia, SARS-CoV-2, COVID-19, virus, platelets malfunction, thromboinflammation

An O.I., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 184–191.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-184-191

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPhO»

Received 21.09.2020

Accepted 02.02.2021

Correspondence:

Anastasia N. Sveshnikova,
head of the Intracellular signalling
and systems biology laboratory, Center
for Theoretical Problems
of Physicochemical Pharmacology, RAS
Address: 30 Srednyaya Kalitnikovskaya st.,
109029 Moscow, Russia
E-mail: a.sveshnikova@physics.msu.ru

В своей истории человечество уже дважды сталкивалось с коронавирусами, которые становились причиной эпидемий в Китае (SARS-CoV) и Саудовской Аравии (MERS-CoV) [1, 2]. В обоих случаях у пациентов развивалась пневмония с тромботическими осложнениями, часто приводившая к летальным исходам [1–3]. Однако данные эпидемии носили локальный характер в отличие от пандемии COVID-19, вызванной коронавирусной инфекцией SARS-CoV-2, которая может претендовать на звание наиболее масштабной в современной истории человечества.

Одной из наиболее опасных особенностей коронавирусной инфекции является высокая вероятность развития острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) – острой дыхательной недостаточности, индуцированной сильным воспалительным ответом организма на проникновение вируса [4, 5]. Системным проявлением данного ответа является цитокиновый шторм – реакция иммунной системы, при которой наблюдается повышенное количество провоспалительных цитокинов (прежде всего интерлейкина-6 (IL-6)), секретируемых активированными иммунными клетками [6, 7]. ОРДС и цитокиновый шторм, будучи избыточными ответами организма человека на вирусную инфекцию SARS-CoV-2, являются основными причинами высокой летальности при COVID-19.

Другой характерной и опасной особенностью COVID-19 является гиперкоагуляция крови – склонность системы гемостаза к избыточному тромбообразованию [8, 9]. Данный феномен был продемонстрирован и для заболеваний, вызванных SARS-CoV и MERS-CoV [1, 2]. При COVID-19 было продемонстрировано, что повышение концентрации D-димера – одного из лабораторных маркеров идущего в организме тромбообразования и тромбоза – сопряжено с тяжестью заболевания [10, 11]. При этом другие общепринятые лабораторные показатели гиперкоагуляции – активированное частичное тромбопластиновое время, протромбиновое время и международное нормализованное отношение при COVID-19 изменены незначительно по сравнению со здоровыми донорами [10]. Тем не менее на более поздних стадиях COVID-19 у наиболее тяжелых больных развивается ДВС-синдром (диссеминированное внутрисосудистое свертывание), приводящий к тромбозам и летальному исходу [8, 12]. ДВС-синдром и тромбоз легочной артерии наиболее распространены как причина смерти больных COVID-19 [13].

Роль тромбоцитарного звена системы свертывания крови в патогенезе COVID-19 является менее однозначной. С одной стороны, показано, что у пациентов с более тяжелым течением заболевания

развивается легкая тромбоцитопения [8]. С другой стороны, причины данного явления наравне с необходимостью антиагрегантной (действующей на активацию и агрегацию тромбоцитов) терапии при COVID-19 не определены [8, 11, 13]. Сравнение с результатами исследований тромботических осложнений при SARS-CoV также не позволяет сделать однозначные выводы [1]. С другой стороны, было продемонстрировано, что тромбоциты пациентов, зараженных SARS-CoV, оказываются более склонны к активации, что позволяет предположить механизмы потенцирования активации тромбоцитов и при COVID-19 [1].

Несмотря на относительную неполноту и противоречивость существующих данных, можно утверждать, что при COVID-19 наблюдается процесс тромбовоспаления [14], оказывающий влияние как на тромбоциты, так и на систему плазменного гемостаза, при этом вызывая гиперактивацию иммунной системы [15]. В современной литературе под тромбовоспалением в первую очередь понимается взаимодействие тромбоцитов и иммунных клеток в районе воспаленного эндотелия [16]. При тромбовоспалении происходит активация тромбоцитов через иммунорецепторы GPVI и CLEC-2, которые могут быть использованы как мишени при терапии нарушений тромбообразования при COVID-19 [17].

При лечении COVID-19 прежде всего проводится противовоспалительная терапия [18]. Одним из перспективных методов лечения воспаления при COVID-19 является использование акалабрутиниба [19] – ингибитора активации В- и Т-клеток [20]. Ингибируя активацию тирозинкиназы Брутона, акалабрутиниб также эффективно ингибирует активацию тромбоцитов [21]. В работе М. Roschewski и соавт. было показано, что акалабрутиниб эффективно снижал концентрацию IL-6 и в большинстве случаев приводил к улучшению общего состояния пациента [19]. Важно отметить, что, несмотря на общую перспективность подхода, число пациентов в исследовании М. Roschewski и соавт. было недостаточным, чтобы заявлять об эффективности метода.

В настоящем обзоре мы рассматриваем существующие данные о потенциальной роли тромбоцитов и их функциональности при COVID-19, а также обсуждаем возможные механизмы участия тромбоцитов в патогенезе при данном заболевании.

Тромбоцитопения при COVID-19 иногда рассматривается как маркер тяжести заболевания

Ранее было многократно продемонстрировано, что воспалительные процессы при COVID-19 запускают активное тромбообразование в легких пациентов [14, 22]. При этом считается, что активация свертывания крови происходит в основном за счет

активации плазменного звена, в то время как роль тромбоцитов при этих процессах вторична [13, 22]. С другой стороны, многократно было показано, что при COVID-19 может развиваться тромбоцитопения средней степени (менее $150 \times 10^9/\text{л}$, но более $75 \times 10^9/\text{л}$) [22, 23]. При этом снижение концентрации тромбоцитов является одним из признаков, которые могут свидетельствовать о негативном прогнозе для пациента [8, 23]. В работе X. Yang и соавт. [23] было показано, что у пациентов с летальным исходом количество тромбоцитов было значительно снижено по сравнению с выжившими.

С другой стороны, сравнение между собой пациентов, находящихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) показало отсутствие значимых различий по количеству тромбоцитов у них [24]. Также показано отсутствие значимых различий по количеству тромбоцитов у пациентов с гриппом и COVID-19, находящихся в ОРИТ [22]. Интересно, что при этом у пациентов с COVID-19 значимо увеличен размер тромбоцитов, который коррелирует со степенью тяжести заболевания [22, 25]. В работе G.D. Wool и соавт. [22] было предположено, что увеличение размера может свидетельствовать о большем количестве «молодых» тромбоцитов в кровотоке пациентов с COVID-19.

У пациентов с COVID-19 статистически значимо изменена функциональность тромбоцитов

Увеличение размера тромбоцитов помимо их потенциальной «молодости» позволяет утверждать, что их функционирование при COVID-19 изменено. Например, показано, что более «молодые» тромбоциты более активно дегранулируют при активации, а также секретируют большее количество провоспалительных хемокинов [26]. Действительно, было продемонстрировано, что на покоящихся тромбоцитах пациентов в больших количествах экспрессируется Р-селектин – один из маркеров дегрануляции тромбоцитов, происходящей при их активации [24]. Таким образом, можно заключить, что тромбоциты у пациентов с COVID-19 являются активированными. Более того, при слабой стимуляции тромбоцитов низкими концентрациями аденозиндифосфата или TRAP-6 (пептид, активирующий один из тромбиновых рецепторов тромбоцита) также наблюдается повышенная экспрессия Р-селектина. Также было показано повышение концентрации фактора тромбоцитов 4 (PF4) – хемокина, являющегося сильным аттрактантом для нейтрофилов, в большом количестве содержащегося в тромбоцитарных гранулах [24]. Помимо PF4 показана повышенная секреция про-воспалительных ИЛ-1, -6, -8 и -10 [26].

Таким образом, можно утверждать, что при COVID-19 наблюдается снижение активационного порога тромбоцитов. С другой стороны, показано, что по некоторым маркерам активации (активации тромбоцитарных интегринов $\alpha_{IIb}\beta_3$) наблюдается снижение активационной способности тромбоцитов [26]. Важно подчеркнуть, что ни по одному из маркеров активации тромбоцитов не наблюдалось различий между пациентами, находящимися в терапевтических отделениях, и больными в отделениях реанимации и интенсивной терапии [26]. Таким образом, не удастся сделать вывод о корреляции дисфункции тромбоцитов и степени тяжести заболевания [24, 27]. Наконец, посредством анализа мазков крови было получено, что у пациентов с COVID-19 наблюдается значительное количество тромбоцитарных агрегатов в цельной крови [28].

Причина функциональных нарушений тромбоцитов может быть связана с особенностями внутриклеточной сигнализации в них пациентов с COVID-19. Было продемонстрировано, что в тромбоцитах пациентов в покое присутствует повышенное количество активированной фосфолипазы A2, которая является одним из ключевых ферментов при синтезе тромбоксана A2 – вторичного медиатора активации тромбоцитов [24]. С другой стороны, было продемонстрировано, что в тромбоцитах пациентов также повышена активность фосфолипазы C, важной для секреции гранул [27]. Таким образом, можно заключить, что у пациентов с COVID-19 происходит активация тромбоцитов при их циркуляции в кровотоке, которая ведет к повышенному потреблению тромбоцитов и ускорению их нового производства, приводящему к появлению большого количества «молодых» тромбоцитов. В пользу этой гипотезы также говорит повышение концентрации тромбопоэтина (белка, запускающего производство тромбоцитов из мегакариоцитов) [25].

Далее мы рассмотрим возможные молекулярные механизмы влияния коронавирусной инфекции на количество и функционирование тромбоцитов.

Механизмы непосредственного влияния SARS-CoV-2 на тромбоциты человека

В отличие от иммунных клеток роль тромбоцитов при инфицировании человеческого организма вирусами изучена значительно хуже. Для некоторых вирусов, таких как вирусы гриппа и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), была показана способность вируса проникать непосредственно в тромбоциты и таким образом распространяться по организму [29]. Однако механизмы проникновения для вирусов различны. Так, вирус гриппа, вероятнее всего, попадает в тромбоцитарные лизосомы, где происходит его декапсидация и высвобождение

однопочечной вирусной РНК, которая активирует тромбоцитарный рецептор TLR-7 [30]. Это приводит к активации тромбоцита, секреции тромбоцитарных гранул и привлечению нейтрофилов, реагирующих на С3а, присутствующий в α -гранулах тромбоцитов. Нейтрофил и активированный тромбоцит образуют гетероагрегат, что приводит к выведению инфицированного тромбоцита из кровотока и таким образом к попаданию вируса в ткани [30].

ВИЧ действует более «элегантно»: вирусная частица проникает в тромбоцит (не активируя его) посредством взаимодействия с тромбоцитарным рецептором DC-SIGN [31, 32]. Попадая в тромбоцит, вирионы сохраняются в способном к репликации состоянии и при этом не привлекают внимание иммунной системы. Более того, у больных ВИЧ, находящихся на антиретровирусной терапии, количество инфицированных ВИЧ тромбоцитов возрастает, что позволяет утверждать, что вирус использует тромбоциты как укрытие [32].

К сожалению, однозначных данных о взаимодействии вируса SARS-CoV-2 с тромбоцитами на настоящий момент нет. Для вируса SARS-CoV, во многом похожего на SARS-CoV-2 с точки зрения строения, показана способность ассоциироваться с тромбоцитарной N-аминопептидазой CD13, однако это взаимодействие не приводит к попаданию вируса внутрь тромбоцита [1]. С другой стороны, было показано, что SARS-CoV может попадать в мегакариоты, оказывающиеся в легких [33, 34]. Теоретически данный механизм может вносить вклад в патологию тромбоцитов и тромбоцитопению у пациентов. Несмотря на общую схожесть SARS-CoV-2 и SARS-CoV, отсутствие новых данных, а также тот факт, что работы по исследованию SARS-CoV были проведены более 15 лет назад, на настоящий момент невозможно однозначно утверждать, что SARS-CoV-2 может как-то напрямую влиять на тромбоциты. Увеличение концентрации тромбоцитозина в плазме пациентов было ранее продемонстрировано [24].

С патогенетической точки зрения одним из наиболее интригующих является вопрос: «Могут ли тромбоциты выступать разносчиками вируса по организму (или хотя бы случайным контейнером для вируса), аналогично вирусам гриппа и ВИЧ?». Прежде всего важно заметить, что основным рецептором, который SARS-CoV-2 использует, чтобы поражать клетки человеческого организма, является ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE-2) [8]. Ранее было показано отсутствие ACE-2 на поверхности тромбоцитов методами количественной протеомики [35]. Данный результат недавно был подтвержден в работе В.К. Манне и соавт. посредством анализа наличия РНК SARS-CoV-2 в тромбо-

цитах [24]. Отсутствие вирионов SARS-CoV-2 было также показано посредством электронной микроскопии [24]. С другой стороны, в той же работе было показано, что состав РНК тромбоцитов у больных COVID-19 в целом изменен [24]. Так, например, на тромбоцитах больных была повышена экспрессия интерферон-индуцируемого белка 3 (IFITM3), в норме практически не экспрессируемого на тромбоцитах. IFITM3 является одним из белков, ингибирующих вход вирусов в клетки. Так как тромбоциты не способны синтезировать значительное количество новых белков при активации, появление IFITM3 на их поверхности может быть вызвано влиянием цитокинового шторма на мегакариоты [6, 25]. Экспрессия IFITM3 на мегакариотах может косвенно свидетельствовать о контактах вируса с мегакариотами человека, которые используют IFITM3 в качестве защиты. Одновременно с исследованием В.К. Манне и соавт. была опубликована работа Y. Zaid и соавт., в которой, напротив, была продемонстрирована экспрессия ACE-2 на поверхности тромбоцитов, а также проникновение вируса SARS-CoV-2 в их цитозоль (как по E-гену вируса, так и по вирусной мРНК) [27]. При этом интересно, что у пациентов, находящихся в ОРИТ, встречаемость вируса в тромбоцитах была ниже, нежели у больных, находящихся в терапевтических отделениях. При этом вирусная РНК присутствовала в тромбоцитах 100% пациентов. Авторами обеих работ выделение тромбоцитов было проведено на одинаково качественном уровне (с концентрацией лейкоцитов < 1 на 10^6 тромбоцитов) [24, 27]. Наконец, важно добавить, что присутствие вируса в плазме крови далеко не всегда наблюдается при COVID-19, что позволяет усомниться в заключении Y. Zaid и соавт., что вирус SARS-CoV-2 присутствует у 100% пациентов в тромбоцитах [8, 36].

Таким образом, по-прежнему невозможно однозначно утверждать, проникает ли вирус в тромбоциты и может ли это проникновение нести потенциальные выгоды для самого вируса (рисунки 1).

Возможные механизмы развития тромбовоспаления при COVID-19

COVID-19-ассоциированная пневмония характеризуется развитием ОРДС [38]. При ОРДС наблюдается диффузное воспаление легких, которое приводит к повреждению эндотелия сосудов, опутывающих альвеолы [39]. Повреждение эндотелиоцита вызывает экспрессию им на своей поверхности белка тканевый фактор и секрецию им мультимерного фактора фон Виллебранда [40]. В результате повреждение эндотелия приводит как к активации свертывания плазмы крови, так и к адгезии тромбоцитов через фактор фон Виллебранда к обнажившемуся субэндотелию [41].

Рисунок 1

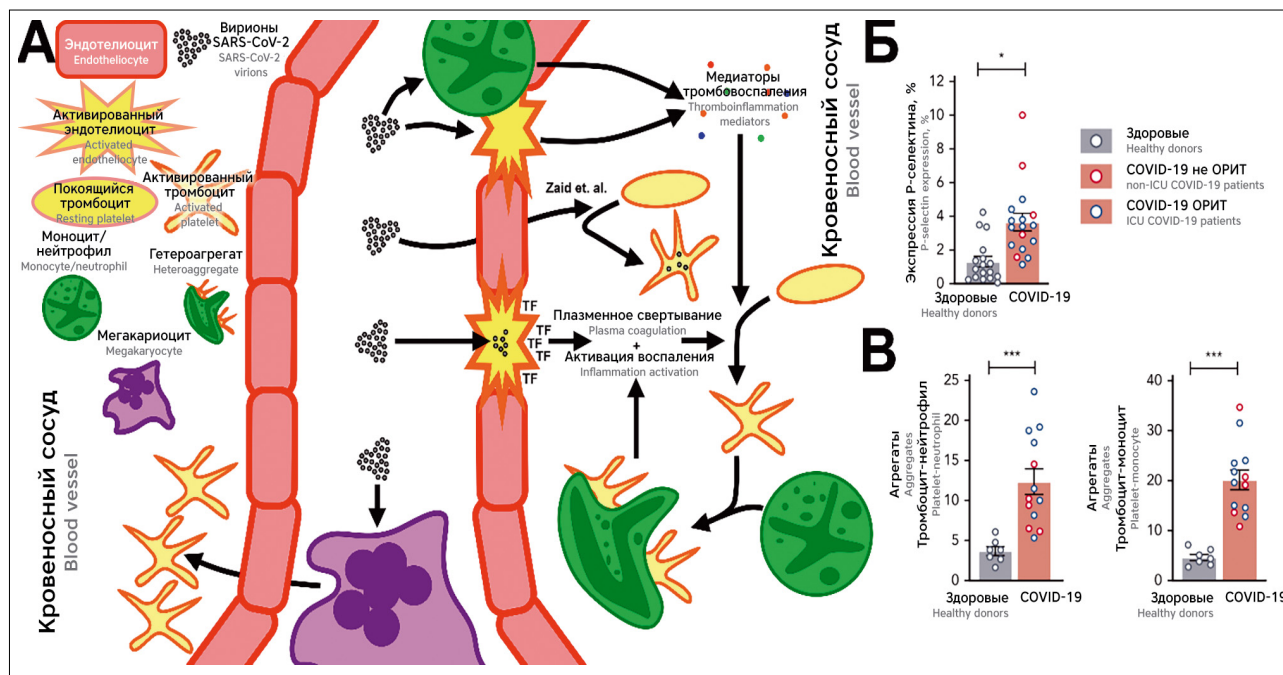
Механизм влияния COVID-19 на тромбоциты

А – схема возможных путей развития тромботических осложнений при COVID-19. Поражение эндотелиоцитов вирусом приводит к привлечению иммунных клеток и секреции медиаторов тромбовоспаления. Это приводит к подактивации тромбоцитов и активации плазменного звена свертывания. Подактивированные тромбоциты формируют гетероагрегаты с иммунными клетками, что приводит к их совместной активации и становится положительной обратной связью для тромбовоспаления. В работе Y. Zaid и соавт. [37] предположено, что вирус непосредственно может проникать в тромбоциты и вызывать их подактивацию. Наконец, предполагается, что вирус может поражать мегакариоциты, что вызывает нарушение тромбопоэза. Б – на тромбоцитах пациентов с COVID-19 наблюдается повышенная экспрессия Р-селектина, что свидетельствует об их подактивации [25]. В – в кровотоке пациентов с COVID-19 наблюдается повышенное количество гетероагрегатов тромбоцитов и иммунных клеток [25]

Figure 1

COVID-19 influence on platelets

А – scheme of possible ways of thrombotic complications in COVID-19 disease. Viral damage of the endothelial cells leads to immune cell attraction and secretion of pro-inflammatory factors. It leads to platelets pre-activation and plasma coagulation. Pre-activated platelets form heteroaggregates with immune cells, which induces their co-activation and makes a positive back-loop for thromboinflammation. Y. Zaid et al. [37] supposed that viruses can directly penetrate platelets and trigger their pre-activation. Probably, the virus can damage megakaryocytes that disturb thrombopoiesis. Б – it is shown that platelets from COVID-19 patients overexpress P-selectin. It indicates that they are pre-activated [25]. В – it is shown that COVID-19 patients have an increased level of platelet-immune cells heteroaggregates in blood flow [25]



Кроме инициации свертывания крови появление тканевого фактора и тромбина ведет к формированию нейтрофильного иммунного ответа в виде образования ДНК-ловушек нейтрофилов (Neutrophil Extracellular Traps, NETs) [42]. NETs состоят из ДНК в «расплетенном» состоянии, цитрулированных гистонов и активных ферментов нейтрофилов (миелопероксидаза, эластаза и т. д.) [42]. Место появления ДНК-ловушек нейтрофилов будет являться местом дальнейшей активации иммунной системы [42], а также активного тромбообразования [43] как в результате адгезии тромбоцитов к ДНК-ловушкам [44], так и в результате активации свертывания плазмы крови [45]. В результате массивной активации тромбоцитов развивается тромбоцитопения потребления, характерная для ДВС-синдрома [46, 47]. Активность нетоза увеличивается с усугублением тяжести течения COVID-19-ассоциированной пневмонии [48].

Лейкоциты и тромбоциты активно взаимодействуют при развитии воспалительного ответа. Активированные клетки врожденного иммунитета производят фактор активации тромбоцитов

[49]. Активация тромбоцитов и их дегрануляция в кровотоке приводят к привлечению иммунных клеток [50, 51] и формированию гетероагрегатов тромбоцитов и нейтрофилов, моноцитов или же циркулирующих CD8⁺-Т-клеток, которое наблюдалось у пациентов с COVID-19 [52, 53]. Образование гетероагрегатов тромбоцитов и иммунных клеток является одним из потенциальных индукторов активации плазменного звена свертывания: при связывании тромбоцитов с моноцитами через выставленный тромбоцитами Р-селектин и моноцитарный PSGL (P-selectin glycoprotein ligand-1, рецептор к Р-селектину) происходит активация моноцитов и выставление ими на поверхность тканевого фактора (рисунок 2) [54]. Было показано, что экспрессия тканевого фактора моноцитами коррелировала с тяжестью течения COVID-19 у больных [53].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы многократно было продемонстрировано, что физиологическая роль тромбоцитов

Рисунок 2

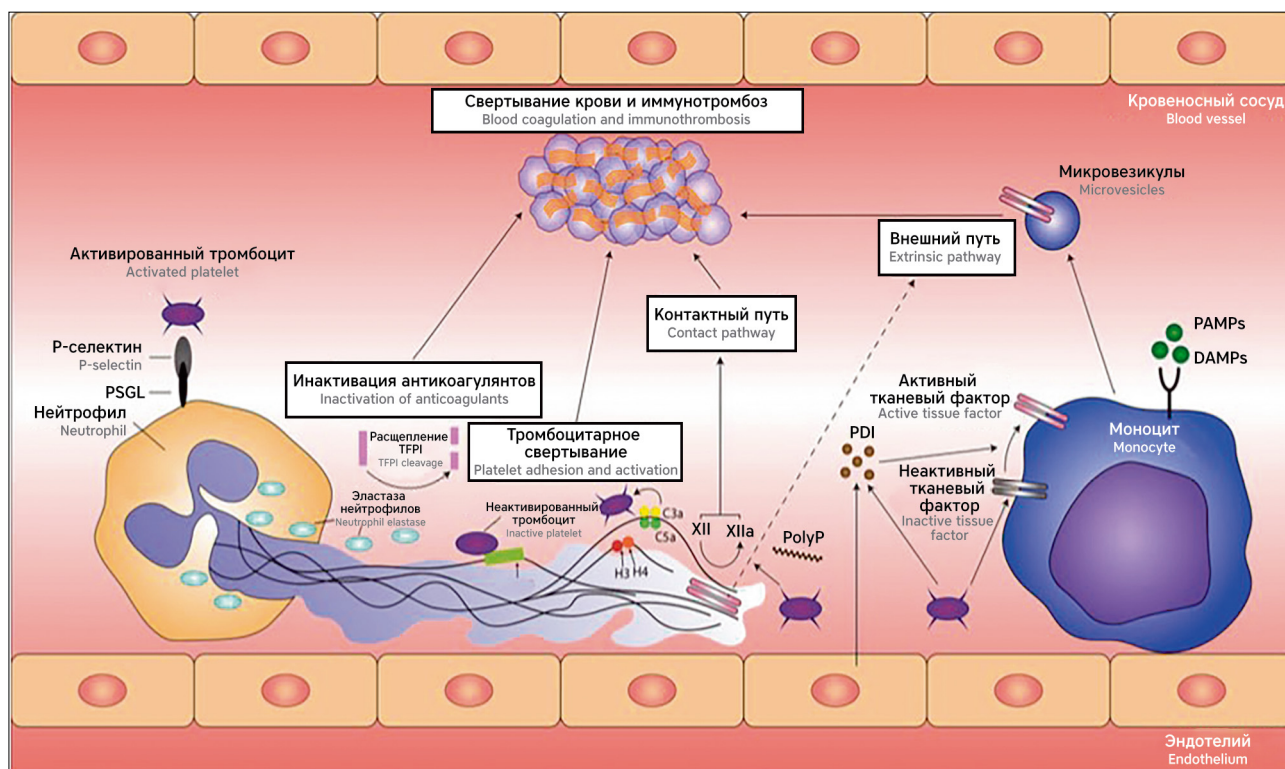
Схема развития тромбовоспаления

Моноциты и их микрочастицы высвобождают тканевый фактор в ответ на патоген-ассоциированные или повреждение-ассоциированные молекулярные паттерны. Это запускает внешний путь свертывания крови. Активированный эндотелий и тромбоциты секретируют протеин дисульфид изомеразу, которая активирует тканевый фактор из микровезикул. Взаимодействие между Р-селектином на активированных тромбоцитах и гликопротеиновым лигандом Р-селектина (PSGL) на лейкоцитах стимулирует рекрутирование иммунных клеток и повышает продукцию тканевого фактора. Образующиеся NETs поддерживают имунотромбоз: связываются с фактором фон Виллебранда и поддерживают рекрутирование тромбоцитов; гистоны NETs H3 и H4 активируют тромбоциты; NETs связываются с тканевым фактором, приводя к производству тромбина благодаря внешнему пути; эластаза нейтрофилов и сериновые протеазы расщепляют и инактивируют антикоагулянты, включая ингибитор тканевого фактора (TFPI) и тромбомодулин; NETs могут напрямую активировать XII фактор (контактный путь) через полифосфаты из тромбоцитов (по [15])

Figure 2

Thromboinflammatory response

Monocytes and monocyte-derived microparticles release tissue factors in the presence of PAMPs and DAMPs. It promotes the extrinsic pathway of blood coagulation. Activated endothelium and platelets release PDI (protein disulfide isomerase), which activates the microvesicles' tissue factor. P-selectin and PSGL (P-selectin glycoprotein ligand) interaction on lymphocytes stimulates immune cells recruiting and enhances tissue factor production. NETs sustain immunothrombosis: they bind to von Willebrand factor and support platelets recruiting; histones H3 and H4 can promote platelets activation; NETs bind to tissue factor leading to thrombin generation (extrinsic pathway); neutrophils elastase and serine proteases cleave and inactivate anticoagulants; NETs can directly enhance factor XII activation through platelet-derived polyphosphates (the contact pathway) [15]



крови заключается не только в гемостазе [17, 55, 56]. Показано, что тромбоциты могут выступать активными модуляторами иммунного ответа организма человека, а также предотвращать геморагии при избыточном воспалительном ответе [55]. Таким образом, исследование роли тромбоцитов при COVID-19, заболевании, которое характеризуется сильным воспалительным ответом организма, может позволить модифицировать тактику лечения и снизить летальность среди пациентов.

В отличие от плазменного звена свертывания роль тромбоцитарного звена гемостаза при COVID-19 является весьма неоднозначной. Подактивация тромбоцитов, наблюдаемая у пациентов, может быть объяснена активным тромбообразованием, которое происходит по причине активации плазменного звена свертывания из-за активации сосудистого эндотелия при воспалении в легких [25, 27]. При этом в результате активации тромбо-

цитов происходит формирование гетороагрегатов тромбоцитов и моноцитов, на поверхности которых выставляется тканевый фактор [25, 53]. Это становится положительной обратной связью для активации свертывания плазмы крови. Таким образом, можно заключить, что тромбоциты в данном случае оказываются «случайной жертвой» обстоятельств, которую вовлекают в патологическое тромбообразование.

С другой стороны, эффективность ингибиторов внутриклеточной тромбоцитарной сигнализации, а также потенциальная возможность проникновения вируса в тромбоцит позволяют предположить, что тромбоциты являются активными участниками развития жизнеугрожающего состояния при COVID-19 [27, 30].

В заключение заметим, что функциональность тромбоцитов при COVID-19 в настоящий момент изучена недостаточно и полученные данные проти-

воречивы, а сопоставление с данными, полученными для других коронавирусных инфекций, не позволяет сделать однозначные выводы о роли тромбоцитов при COVID-19.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при поддержке фонда «Наука – детям», а также стипендии Президента Российской Федерации СП-2675.2019.4.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

An O.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9023-901X>

Martyanov A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0211-6325>

Stepanyan M.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7509-6316>

Boldova A.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4252-5588>

Panteleev M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8128-7757>

Ataullakhanov F.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6668-0948>

Rumyantsev A.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1643-5960>

Sveshnikova A.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4720-7319>

Литература

- Yang M., Li C.K., Li K., Hon K.L.E., Ng M.H.L., Chan P.K.S., et al. Hematological findings in SARS patients and possible mechanisms (review). *Int J Mol Med* 2004; 14 (2): 311–5. DOI: 10.3892/ijmm.14.2.311
- Yin Y., Wunderink R.G. MERS, SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia. *Respirol. Carlton Vic* 2018; 23 (2): 130–7. DOI: 10.1111/resp.13196
- Park S.E. Epidemiology, virology, and clinical features of severe acute respiratory syndrome -coronavirus-2 (SARS-CoV-2; Coronavirus Disease-19). *Clin Exp Pediatr* 2020; 63 (4): 119–24. DOI: 10.3345/cep.2020.00493
- Richardson S., Hirsch J.S., Narasimhan M., Crawford J.M., McGinn T., Davidson K.W., et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. *JAMA* 2020; 323 (20): 2052–9. DOI: 10.1001/jama.2020.6775
- Peck T.J., Hibbert K.A. Recent advances in the understanding and management of ARDS. *F1000Research* 2019; 8: F1000 Faculty Rev-1959. DOI: 10.12688/f1000research.20411.1
- Hu B., Huang S., Yin L. The cytokine storm and COVID-19. *J Med Virol* 2020. DOI: 10.1002/jmv.26232
- Chousterman B.G., Swirski F.K., Weber G.F. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis. *Semin Immunopathol* 2017; 39 (5): 517–28. DOI: 10.1007/s00281-017-0639-8
- Terpos E., Ntanas-Stathopoulos I., Elalamy I., Kastritis E., Sergentanis T.N., Politou M. Hematological findings and complications of COVID-19. *Am J Hematol* 2020; 95 (7): 834–47. DOI: 10.1002/ajh.25829
- Makatsariya A.D., Grigoreva K.N., Mingalimov M.A., Bitsadze V.O., Khizroeva J.Kh., Tretyakova M.V., et al. Coronavirus disease (COVID-19) and disseminated intravascular coagulation syndrome. *Obstetr Gynecol Reproduct* 2020; 14 (2). Доступно по: <https://www.gynecology.su/jour/article/view/633>. Дата обращения 05.06.2020.
- Iba T., Levy J.H., Connors J.M., Warkentin T.E., Thachil J., Levi M. The unique characteristics of COVID-19 coagulopathy. *Crit Care* 2020; 24 (1): 360. DOI: 10.1186/s13054-020-03077-0
- Mucha S.R., Dugar S., McCrae K., Joseph D., Bartholomew J., Sacha G.L., et al. Coagulopathy in COVID-19: Manifestations and management. *Cleve Clin J Med* 2020; 87 (8): 461–8. DOI: 10.3949/ccjm.87a.ccc024
- Seitz R., Schramm W. DIC in COVID-19: Implications for prognosis and treatment? *J Thromb Haemost* 2020; 18 (7): 1798–9. DOI: 10.1111/jth.14878
- Connors J.M., Levy J.H. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. *Blood* 2020; 135 (23): 2033–40. DOI: 10.1182/blood.202006000
- Connors J.M., Levy J.H. Thromboinflammation and the hypercoagulability of COVID-19. *J Thromb Haemost* 2020; 18 (7): 1559–61.
- Jayarangaiah A., Kariyanna P.T., Chen X., Jayarangaiah A., Kumar A. COVID-19-Associated Coagulopathy: An Exacerbated Immunothrombosis Response. *Clin Appl Thromb Hemost* 2020; 26: 107602962094329.
- Schattner M., Jenne C.N., Negrotto S., Ho-Tin-Noe B. Editorial: Platelets and Immune Responses During Thromboinflammation. *Front Immunol* 2020; 11: 1079.
- Rayes J., Watson S.P., Nieswandt B. Functional significance of the platelet immune receptors GPVI and CLEC-2. *J Clin Invest* 2019; 129 (1): 12–23. DOI: 10.1172/JCI122955
- Cao X. COVID-19: immunopathology and its implications for therapy. *Nat Rev Immunol* 2020; 20 (5): 269–70.
- Roschewski M., Lionakis M.S., Sharman J.P., Roswarski J., Goy A., Monticelli M.A., et al. Inhibition of Bruton tyrosine kinase in patients with severe COVID-19. *Sci Immunol* 2020; 5 (48).
- Martyanov A.A., Balabin F.A., Dunster J.L., Panteleev M.A., Gibbins J.M., Sveshnikova A.N. Control of platelet CLEC-2-mediated activation by receptor clustering and tyrosine kinase signalling. *Biophys J* 2020. DOI: 10.1016/j.bpj.2020.04.023
- Nicolson P.L.R., Welsh J.D., Chauhan A., Thomas M.R., Kahn M.L., Watson S.P. A rationale for blocking thromboinflammation in COVID-19 with Btk inhibitors. *Platelets* 2020; 31 (5): 685–90.
- Wool G.D., Miller J.L. The Impact of COVID-19 Disease on Platelets and Coagulation. *Pathobiology* 2021; 88 (1): 15–27. DOI: 10.1159/000512007
- Yang X., Yang Q., Wang Y., Wu Y., Xu J., Yu Y., Shang Y. Thrombocytopenia and its association with mortality in patients with COVID-19. *J Thromb Haemost* 2020; 18 (6): 1469–72. DOI: 10.1111/jth.14848
- Manne B.K., Denorme F., Middleton E.A., Portier I., Rowley J.W., Stubben C., et al. Platelet gene expression and function in patients with COVID-19. *Blood* 2020; 136 (11): 1317–29.
- Manne B.K., Denorme F., Middleton E.A., Portier I., Rowley J.W., Stubben C.J., et al. Platelet Gene Expression and Function in COVID-19 Patients. *Blood* 2020. Доступно по: <https://ashpublications.org/blood/article/doi/10.1182/blood.202007214/461106/Platelet-Gene-Expression-and-Function-in-COVID-19>. Ссылка активна на 12.03.2021.
- Taus F., Salvagno G., Canè S., Fava C., Mazzaferri F., Carrara E., et al. Promote Thromboinflammation in SARS-CoV-2 Pneumonia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2020; 40 (12): 2975–89. DOI: 10.1161/ATVBAHA.120.315175
- Zaid Y., Puhm F., Allaey S., Naya A., Oudghiri M., Khalki L., et al. Platelets can contain SARS-CoV-2 RNA and are hyper-

- activated in COVID-19. *Circ Res* 2020; 127 (11): 1404–18. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317703
28. Rampotas A., Pavord S. Platelet aggregates, a marker of severe COVID-19 disease. *J Clin Pathol* 2020; jclinpath-2020-206933. DOI: 10.1136/jclinpath-2020-206933
 29. Prydzial E.L.G., Lin B.H., Sutherland M.R. Virus-Platelet Associations. In: Platelets in Thrombotic and Non-Thrombotic Disorders: Pathophysiology, Pharmacology and Therapeutics: an Update. Gresele P., Kleiman N.S., Lopez J.A., Page C.P., eds. Cham: Springer International Publishing; 2017. Pp. 1085–1102.
 30. Koupenova M., Corkrey H.A., Vitseva O., Manni G., Pang C.J., Clancy L., et al. The role of platelets in mediating a response to human influenza infection. *Nat Commun* 2019; 10 (1). DOI: 10.1038/s41467-019-09607-x
 31. Chaipan C., Soilleux E.J., Simpson P., Hofmann H., Gramberg T., Marzi A., et al. DC-SIGN and CLEC-2 Mediate Human Immunodeficiency Virus Type 1 Capture by Platelets. *J Virol* 2006; 80 (18): 8951–60. DOI: 10.1128/JVI.00136-06
 32. Real F., Capron C., Sennepin A., Arrigucci R., Zhu A., Sannier G., et al. Platelets from HIV-infected individuals on antiretroviral drug therapy with poor CD4+ T cell recovery can harbor replication-competent HIV despite viral suppression. *Sci Transl Med* 2020; 12 (535). DOI: 10.1126/scitranslmed.aat6263
 33. Rapkiewicz A.V., Mai X., Carsons S.E., Pittaluga S., Kleiner D.E., Berger J.S., et al. Megakaryocytes and platelet-fibrin thrombi characterize multi-organ thrombosis at autopsy in COVID-19: A case series. *EClinicalMedicine* 2020; 24: 100434.
 34. Valdivia-Mazeyra M.F., Salas C., Nieves-Alonso J.M., Martín-Fragueiro L., Bárcena C., Muñoz-Hernández P., et al. Increased number of pulmonary megakaryocytes in COVID-19 patients with diffuse alveolar damage: an autopsy study with clinical correlation and review of the literature. *Virchows Arch* 2020; 1–10. DOI: 10.1007/s00428-020-02926-1
 35. Burkhart J.M., Vaude M., Gambaryan S., Radau S., Walter U., Martens L., et al. The first comprehensive and quantitative analysis of human platelet protein composition allows the comparative analysis of structural and functional pathways. *Blood* 2012; 120 (15): e73–82. DOI: 10.1182/blood-2012-04-416594
 36. Chang L., Yan Y., Wang L. Coronavirus Disease 2019: Coronaviruses and Blood Safety. *Transfus Med Rev* 2020; 34 (2): 75–80. DOI: 10.1016/j.tmr.2020.02.003
 37. Zaid Y., Puhm F., Allaeyes I., Naya A., Oudghiri M., Khalki L., et al. Platelets Can Associate with SARS-Cov-2 RNA and Are Hyperactivated in COVID-19. *Circ Res* 2020; 127 (11): 1404–18. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317703
 38. Ferrando C., Suarez-Sipmann F., Mel-lado-Artigas R., Hernández M., Gea A., Arruti E., et al on behalf of the COVID-19 Spanish ICU Network. (2020) Clinical features, ventilatory management, and outcome of ARDS caused by COVID-19 are similar to other causes of ARDS. *Intensive Care Med* 2020; 46 (12): 2200–11.
 39. Umbrello M., Formenti P., Bolgiaghi L., Chiumello D. Current Concepts of ARDS: A Narrative Review. *Int J Mol Sci* 2016; 18 (1): 64. DOI: 10.3390/ijms18010064
 40. Grobler C., Maphumulo S.C., Grobelaar L.M., Bredenkamp J.C., Laubscher G.J., Lourens P.J., et al. Covid-19: The Rollercoaster of Fibrin(Ogen), D-Dimer, Von Willebrand Factor, P-Selectin and Their Interactions with Endothelial Cells, Platelets and Erythrocytes. *Int J Mol Sci* 2020; 21 (14): 5168. DOI: 10.3390/ijms21145168
 41. Frantzeskaki F., Armaganidis A., Orfanos S.E. Immunothrombosis in Acute Respiratory Distress Syndrome: Cross Talks between Inflammation and Coagulation. *Respiration* 2017; 93 (3): 212–25.
 42. Fuchs T.A., Brill A., Wagner D.D. Neutrophil Extracellular Trap (NET) Impact on Deep Vein Thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32 (8): 1777–83.
 43. Martinod K., Wagner D.D. Thrombosis: tangled up in NETs. *Blood* 2014; 123 (18): 2768–76.
 44. Kimball A.S., Obi A.T., Diaz J.A., Henke P.K. The Emerging Role of NETs in Venous Thrombosis and Immunothrombosis. *Front Immunol* 2016; 7: 236.
 45. Engelmann B., Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2013; 13 (1): 34–45.
 46. Liaw P.C., Ito T., Iba T., Thachil J., Zeerleder S. DAMP and DIC: The role of extracellular DNA and DNA-binding proteins in the pathogenesis of DIC. *Blood Rev* 2016; 30 (4): 257–61.
 47. Delabranche X., Stiel L., Severac F., Galois A.-C., Mauvieux L., Zobairi F., et al. Evidence of Netosis in Septic Shock-Induced Disseminated Intravascular Coagulation. *Shock* 2017; 47 (3): 313–7. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000719
 48. Middleton E.A., He X.-Y., Denorme F., Campbell R.A., Ng D., Salvatore S.P., et al. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Blood* 2020; 136 (10): 1169–79.
 49. Zimmerman G.A., McIntyre T.M., Prescott S.M., Stafforini D.M. The platelet-activating factor signaling system and its regulators in syndromes of inflammation and thrombosis. *Crit Care Med* 2002; 30 (5 Suppl): S294–301.
 50. Yeaman M.R. Platelets in defense against bacterial pathogens. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67 (4): 525–44. SP
 51. Semple J.W., Italiano J.E., Freedman J. Platelets and the immune continuum. *Nat Rev Immunol* 2011; 11 (4): 264–74.
 52. Rampotas A., Pavord S. Platelet aggregates, a marker of severe COVID-19 disease. *J Clin Pathol* 2020; jclinpath-2020-206933. DOI: 10.1136/jclinpath-2020-206933
 53. Hottz E.D., Azevedo-Quintanilha I.G., Palhinha L., Teixeira L., Barreto E.A., Pão C.R.R., et al. Platelet activation and platelet-monocyte aggregate formation trigger tissue factor expression in patients with severe COVID-19. *Blood* 2020; 136 (11): 1330–41. DOI: 10.1182/blood.202007252
 54. Celi A., Pellegrini G., Lorenzet R., De Blasi A., Ready N., Furie B.C., Furie B. P-selectin induces the expression of tissue factor on monocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91 (19): 8767.
 55. Koupenova M., Clancy L., Corkrey H.A., Freedman J.E. Circulating Platelets as Mediators of Immunity, Inflammation, and Thrombosis. *Circ. Res* 2018; 122 (2): 337–51.
 56. Jenne C.N., Kubes P. Platelets in inflammation and infection. *Platelets* 2015; 26 (4): 286–92.

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 21.09.2020
Принята к печати 02.02.2021

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-192-206

Просто о сложном: инфантильная гемангиома

Л.А. Хачатрян, И.С. Клецкая

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

Инфантильная гемангиома (ИГ) – это самая частая доброкачественная сосудистая опухоль детей первого года жизни, в основе которой лежит аномальная пролиферация эндотелиальных клеток под действием основных проангиогенных факторов VEGF и FGF. Она развивается в первые недели после рождения, формируясь на протяжении 3–9 мес с регрессом в последующие 3–7 лет. Три четверти ИГ имеют нодулярную форму и не сопровождаются мальформациями. В то время как сегментарные ИГ чаще всего ассоциированы с синдромальными формами. Несмотря на спонтанный регресс (в 90% случаев), некоторые формы и локализации ИГ могут приводить к развитию осложнений как локальных, так и ставящих под угрозу витальные функции. В подавляющем большинстве случаев диагноз основывается на данных анамнеза, характерных признаков опухоли и клинического течения. Дополнительные исследования (ультразвуковая доплерография, магнитно-резонансная томография/компьютерная томография) необходимы при осложненных формах и в сомнительных клинических случаях. Родители пациентов дали согласие на использование информации, в том числе фотографий детей, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: инфантильная гемангиома, ангиогенез, сегментарная гемангиома, гемангиоматоз

Хачатрян Л.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 192–206. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-192-206

Infantile hemangioma explained in simple terms

L.A. Khachatryan, I.S. Kletskaia

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

Infantile hemangioma (IH) it is the most common benign vascular tumor in children of the first year, which is based on abnormal proliferation of endothelial cells under the influence of the main pro-angiogenic factors VEGF and FGF. It develops in the first weeks after birth, forming over 3–9 months with regression in the next 3–7 years. Three-quarters of infantile hemangiomas are nodular and are not accompanied by malformations. At the same time, segmental IH is most often associated with syndromic forms. Despite spontaneous regression (in 90% of cases), some forms and localization of IH can lead to the development of complications, local and endangering vital functions. In most cases, the diagnosis is based on anamnesis, characteristic features of the tumor, and clinical course. Additional studies (ultrasound DG, MRI/CT) are necessary in complicated forms and in doubtful clinical cases. The patient's parents agreed to use the information, including the child's photo, in scientific research and publications.

Key words: infantile hemangioma, angiogenesis, segmental hemangioma, hemangiomatosis

Khachatryan L.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 192–206. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-192-206

Классификация

Первая классификация сосудистой патологии была опубликована Mulliken и Glowacki в 1982 г. Она основывалась на биологии и пролиферативном потенциале сосудистых аномалий [1].

В 1992 г. было создано Международное общество по изучению сосудистых опухолей (International Society for the Study of Vascular Anomalies, ISSVA) под руководством Mulliken, которое в последующем опубликовало классификацию, учитывающую клинические, радиологические, гистологические и гемодинамические характеристики сосудистых аномалий, что позволило стандартизировать номенклатуру. В настоящее время введено понятие «сосудистые аномалии». Все сосудистые аномалии разделены на две большие группы: сосудистые опухоли и сосудистые мальформации (таблица 1) [2].

Сосудистые мальформации сформированы к рождению, даже если они не всегда визуализируются

клинически, и представляют собой морфогенетическую аномалию сосудистой сети без пролиферации эндотелиальных клеток. Именно поэтому они никогда не регрессируют. Данная патология является результатом нарушения формирования сосудов [3]. Частота встречаемости составляет 1–1,5% в общей популяции, по данным молекулярно-генетической лаборатории клинического университета Saint-Luc. По характеру кровотока сосудистые мальформации разделены на две группы: мальформации с низким кровотоком (slow-flow) (капиллярные, венозные, лимфатические или комбинированные) и мальформации с высоким кровотоком (fast-flow) (артериальные, артериовенозные, артериовенозные фистулы). Кроме того, выделяют мальформации крупных магистральных сосудов и мальформации в рамках синдромальных заболеваний.

Сосудистые опухоли с гистологической точки зрения характеризуются пролиферацией эндотели-

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 21.09.2020

Accepted 02.02.2021

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 the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: lili.2510@yandex.ru

Таблица 1
Сосудистые аномалии, классификация ISSVA 2014 г.

Table 1
Vascular anomalies, ISSVA 2014 classification

Сосудистые аномалии Vascular anomalies				
Сосудистые опухоли Vascular	Сосудистые мальформации Vascular malformations			
Доброкачественные Benign	простые simple	комбинированные combined	аномалии крупных магистральных сосудов of major named vessels	ассоциированные с другими аномалиями (синдромы) associated with other anomalies
Локально агрессивные Locally aggressive or borderline	CM Лимфатическая Венозная Артериовенозная* мальформация Артериовенозная фистула* Capillary malformations Lymphatic malformations Venous malformations Arteriovenous malformations* Arteriovenous fistula*	CVM, CLM LMV, CLMV CAVM* CLAVM* и др. CVM, CLM LVM, CLVM CAVM CLAVM, others	Лимфатические Венозные Артериальные Аномалии: - отхождения - хода - количества - протяженности - диаметра - наличие шунтов - персистенция -эмбриональных сосудов Affect: lymphatics veins arteries Anomalies of: - origin - course - number - length - diameter (aplasia, hypoplasia, stenosis, ectasia/aneurysm) - valves - communication (avf) - persistence (of embryonal vessel)	- Klippel-Trenaunay - Parkes-Weber - Servelle-Martorell - Sturge-Weber - Maffucci - CLOVES - Proteus - Bannayan-Riley-Ruvalcaba - Макроцефалия – CM - Микроцефалия – CM - Klippel-Trenaunay syndrome - Parkes-Weber syndrome - Servelle-Martorell syndrome - Sturge-Weber syndrome Limb CM + congenital non-progressive limb hypertrophy - Maffucci syndrome - CLOVES syndrome - Proteus syndrome - Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrome Macrocephaly – CM Microcephaly – CM
Злокачественные Malignant				

Примечание. CM – капиллярная мальформация; CVM – капиллярно-венозная мальформация; CLM – капиллярно-лимфатическая мальформация; CAVM – капиллярно-артериовенозная мальформация; CLAVM – капиллярно-лимфатико-артериовенозная мальформация; * – с быстрым кровотоком.
 Note. CM – capillary malformations; CVM – capillary-venous malformation; CLM – capillary-lymphatic malformation; LVM – lymphatic-venous malformation; CAVM – capillary-arteriovenous malformation; CLAVM – capillary-lymphatic-arteriovenous malformation; * – with rapid blood flow.

альных клеток. По биологическому поведению сосудистые опухоли подразделяют на доброкачественные (гемангиомы), локально агрессивные/промежуточной степени злокачественности (гемангиоэндотелиомы, за исключением эпителиоидной и др.) и злокачественные (эпителиоидная гемангиоэндотелиома и ангиосаркома и др.) (таблица 2).

Самой частой из всех форм сосудистой патологии является ИГ. Это доброкачественная опухоль, в основе которой лежит аномальная пролиферация эндотелиальных клеток с нарушенной архитектурой кровеносных сосудов [4].

Эпидемиология

ИГ – самая частая доброкачественная опухоль в педиатрии и самая частая среди всех гемангиом. Частота встречаемости составляет 5–10% [5] у детей первого года жизни и у 30% недоношенных детей с весом менее 1800 г. ИГ чаще встречаются у девочек европеоидной расы (2,5–4:1) [6]. У недоношенных детей соотношение девочки:мальчики меньше – 1,4:1, но значимо увеличивается при осложненных и сегментарных формах ИГ и составляет 9:1 [7].

Этиология

Этиология остается до конца неизвестной. Существуют несколько обсуждаемых гипотез:

1. Плацентарная гипотеза, согласно которой происходит эмболизация тканей плода клетками плаценты. Базирована эта гипотеза на выявлении одинаковых маркеров (GLUT-1, мерозин, антиген Lewis Y, Fc-гамма-рецептор II) [8, 9], выявляемых в сосудах ИГ и плаценты. Прежде всего речь идет о маркере GLUT-1. Эта же гипотеза позволяет объяснить все стадии эволюции ИГ и ее способность к спонтанной инволюции.

2. Возникновение мутации гена, задействованного в пролиферации эндотелиальных клеток.

3. Но совершенно очевидно, что гипоксия, как антенатальная, так и перинатальная, является основной гипотезой возникновения ИГ [10]. На это указывает и большая часть предрасполагающих факторов [11–14]:

- антенатальная гипоксия;
- многоплодная беременность;
- осложненная беременность (преэклампсия, патология плаценты/отслойка плаценты);
- вес при рождении менее 1500 г/недоношенность;

- амниоцентез/хориоцентез;
- женский пол;
- европеоидная раса;
- пожилой возраст матери.

Патофизиология

Считается, что ИГ имеет эмбриональное происхождение, образуясь из мезодермы. В норме формирование сосудистой системы в коже заканчивается на последних неделях гестации. Если это созревание не завершено к рождению, некоторые сосуды остаются под действием стимулирующих факторов, что приводит к их чрезмерной пролиферации и формированию сосудистой опухоли.

Выделяют два этапа в развитии сосудов: васкулогенез и ангиогенез.

Васкулогенез. Это инициальный этап в формировании сосудов, который приводит к дифференцировке *de novo* клеток, происходящих из мезодермы,

Таблица 2
Сосудистые опухоли, классификация ISSVA 2014 г.

Table 2
Vascular tumors, ISSVA classification 2014

Доброкачественные опухоли Benign vascular tumors	
Инфантильная гемангиома (ИГ) Infantile hemangioma/Hemangioma of infancy	
Врожденные гемангиомы Congenital hemangioma	
RICH (Rapidly involuting congenital hemangioma)	
NICH (Non involuting congenital hemangioma)	
PICH (Partially involuting congenital hemangioma)	
«Пучковая» ангиома (tufted ангиома) Tufted angioma	
Веретенноклеточная гемангиома Spindle-cell hemangioma	
Эпителиоидная гемангиома Epithelioid hemangioma	
Пиогенная гранулема Pyogenic granuloma (aka lobular capillary hemangioma)	
Другие Others	
Локально агрессивные сосудистые опухоли (промежуточная степень злокачественности) Locally aggressive or borderline vascular tumors	
Капошиформная гемангиоэндотелиома Kaposiform hemangioendothelioma	
Ретиформная гемангиоэндотелиома Retiform hemangioendothelioma	
Папиллярная интралимфатическая ангиоэндотелиома, опухоль Дабска Papillary intralymphatic angioendothelioma (PILA), Dabska tumor	
Композитная гемангиоэндотелиома Composite hemangioendothelioma	
Саркома Капоши Kaposi sarcoma	
Другие Others	
Злокачественные сосудистые опухоли Malignant vascular tumors	
Ангиосаркома Angiosarcoma	
Эпителиоидная гемангиоэндотелиома Epithelioid hemangioendothelioma	
Другие Others	

в гемангиобласты. Гемангиобласты группируются в островки, центрально расположенные клетки которых превращаются в гемопоэтические, в то время как из периферических образуются ангиобласты, являющиеся предшественниками эндотелиальных клеток. Последние организуются в сосуды, напоминающие капилляры, формируя первичное сосудистое сплетение. Это ключевой этап, который преимущественно стимулируется эндотелиальным фактором роста сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF) и его рецептором [15].

В основе же формирования сосудистой опухоли лежит нарушение ангиогенеза, обусловленное дисбалансом между ангиогенными и антиангиогенными факторами.

Ангиогенез представляет собой сложно регулируемый процесс, который заключается в ремоделировании (пучкование, объединение, регресс незрелых сосудов) первичного сосудистого сплетения в новые капилляры из предшествующих как в физиологических условиях, так и при патологическом процессе под действием множества стимулирующих и ингибирующих факторов [16].

Три последовательных барьера стоят на пути формирования новых сосудов: базальная мембрана, перicyты, соединительнотканые клетки, которые окружают сосуд, и межклеточный матрикс. Для формирования нового сосуда необходимо разрушение этих барьеров путем активации ферментов системы фибринолиза и стимуляции эндотелиальных клеток циркулирующими или локально активными факторами: uPA (urokinase plasminogen activator) и tPA (tissue plasminogen activator). Эти ферменты активируют в свою очередь матриксные металлопротеиназы (MMPs), разрушающие межклеточный матрикс [17]. MMPs способствуют «отслоению» перicyтов, лизированию базальной мембраны и освобождению в экстрацеллюлярном матриксе пространства для экспансии нового сосуда. Активированные эндотелиальные клетки мигрируют из «материнского» сосуда и пролиферируют в сформированной нише экстрацеллюлярного матрикса (рисунки 1).

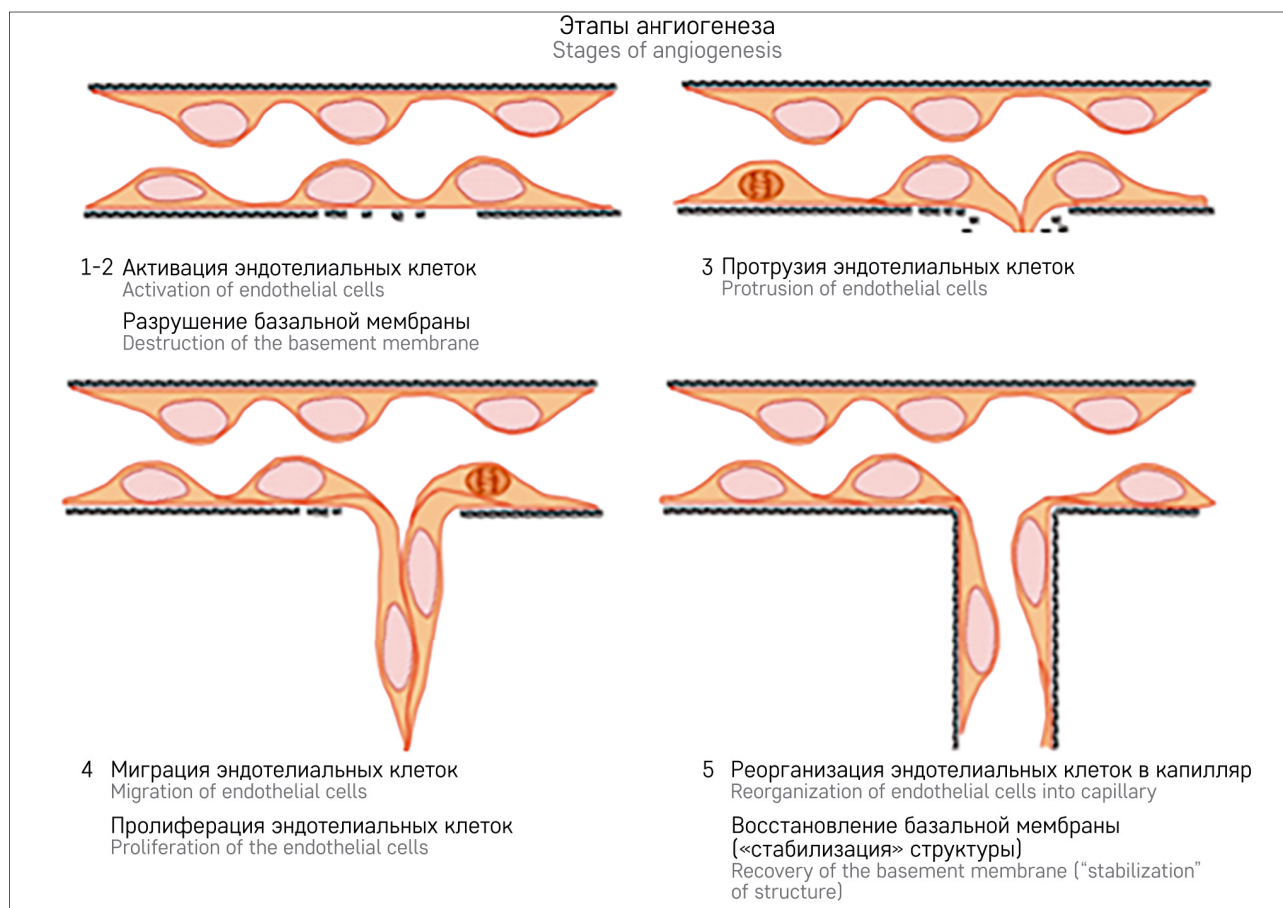
Миграция и организация сосудистой трубки из эндотелиальных клеток завершается экспрессией интегринов, которые способствуют их связыванию с протеинами межклеточного матрикса. «Главный/материнский» сосуд формируются менее чем за 24 ч, из которого в дальнейшем образуются/пучкуются новые капилляры. Основной сосуд может периодически «артериализироваться», что подразумевает синтез внутренней эластической мембраны гладкомышечных клеток [17]. При гемангиомах в стадии пролиферации определяется высокий уровень MMPs, VEGF и фактора роста фибробластов (fibroblasts growth factors, FGF).

Рисунок 1

Схематическое изображение различных этапов ангиогенеза [18]: 1–3 – активация эндотелиальных клеток под действием стимулирующих факторов, разрушение базальной мембраны с последующей протрузией эндотелиальных клеток; 4 – миграция эндотелиальных клеток, пролиферация и формирование капиллярной «почки»; 5 – созревание эндотелиальных клеток с формированием просвета в капиллярной «почке», восстановление базальной мембраны. Образование сосудистой сетки

Figure 1

Schematic representation of the different stages of angiogenesis [18]: 1–3 – activation of endothelial cells under the influence of stimulating factors, destruction of the basement membrane with subsequent protrusion of endothelial cells; 4 – migration of endothelial cells, proliferation and formation of a capillary "kidney"; 5 – maturation of endothelial cells with the formation of a lumen in the capillary "kidney", recovery of the basement membrane. The formation of the vasculature



В качестве главных факторов, стимулирующих ангиогенез, можно выделить два:

- VEGF – мощный специфический фактор роста эндотелиальных клеток, способный стимулировать образование капилляров. Это гликопротеин, имеющий несколько изоформ и обладающий мощной митогенной и ангиогенной активностью. Самым активным проангиогенным фактором является VEGF-A. Он фиксируется на специфических рецепторах двух типов (VEGFR-1, VEGFR-2), расположенных на эндотелиальных клетках, предшественниках эндотелиальных клеток и на моноцитах. Фиксация VEGF на рецепторах эндотелиальных клеток приводит к их пролиферации и фенотипической трансформации, выработке протеолитических ферментов, что в совокупности способствует формированию новых сосудов [17]. В условиях гипоксии повышается концентрация и экспрессия VEGF за счет повышения транскрипции фактора HIF-1 (hypoxia-inducible factor). Активная

форма последнего HIF-1 индуцирует транскрипцию гена *VEGF*. Кроме того, в условиях гипоксии секреция VEGF увеличивается под действием интерлейкинов и TGF (transforming growth factor). Все эти факторы способствуют пролиферации эндотелиальных клеток, секреции протеинкиназ (металлопротеиназы), которые необходимы для реорганизации внеклеточного матрикса, координации дифференцировки клеток сосудов и ангиогенеза [17]. Ангиогенные факторы активно секретируются самим эндотелием, особенно интенсивно в условиях характерной для опухоли гипоксии [17]. В результате в опухолевой ткани происходит пара-и аутокринная регуляция ангиогенеза.

- FGFa/FGFb (fibroblasts growth factors). Под действием этих факторов ангиобласты мезодермы дифференцируются в эндотелиальные клетки для формирования эмбриональных сосудов. Они принадлежат, как и VEGF, к семейству ростовых факторов.

FGF был выделен из многих тканей, включая опухолевые [17].

Сформированная таким образом гемангиома проходит три стадии: пролиферации, стабилизации и инволюции. Стадия пролиферации гемангиомы характеризуется быстрым «оборотом» (“turn-over”) эндотелиальных клеток под действием факторов, стимулирующих ангиогенез (коллагеназа IV типа, PCNA, bFGF, VEGF). Высокий уровень сывороточного VEGF и MMPs коррелирует с тяжестью заболевания. Переход из фазы пролиферации в фазу инволюции происходит за счет изменения соотношения между факторами, стимулирующими ангиогенез (bFGF и VEGF) и эндогенными ингибиторами ангиогенеза (ангиостатин, TGF- β – transforming factor β , интерферон- β , TIMP – tissue inhibitor of metalloproteinases – ингибитор неоваскулогенеза,) [19]. Фаза инволюции характеризуется повышенной экспрессией маркера зрелости эндотелиальных клеток – ICAM-1 (CD54) (экспрессируется в пролиферирующих эндоте-

лиальных клетках и представляет собой молекулу межклеточной адгезии). Регресс реализуется путем апоптоза. В фазу инволюции эндотелиальные и стромальные клетки экспрессируют маркеры апоптоза – протеолитические ферменты – каспазу 3.

Гистологические изменения

Три гистологические фазы следуют одна за другой, соответствуя «жизненному» циклу гемангиомы [20].

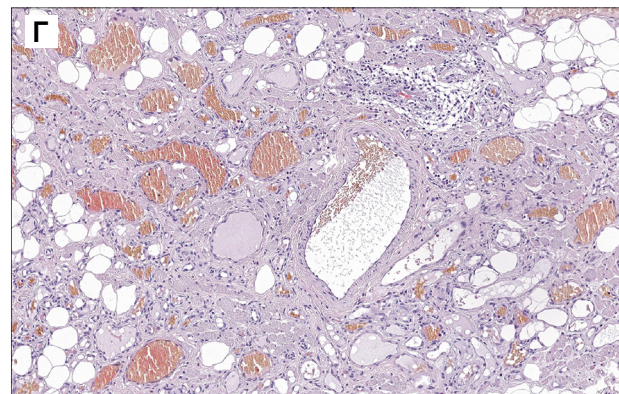
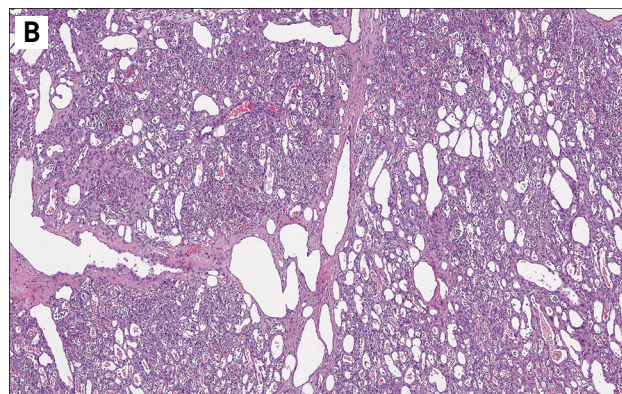
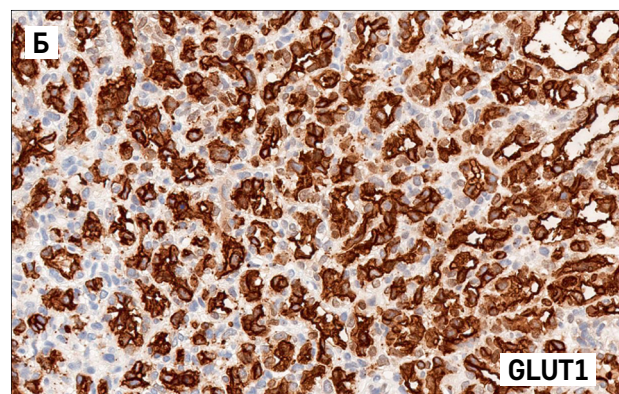
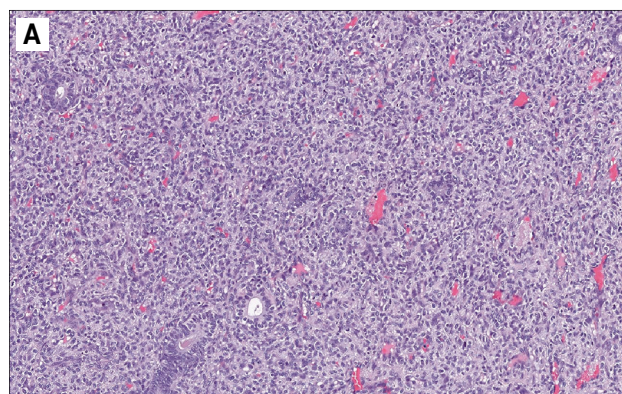
Фаза 1. Гистологически опухоль высокой клеточности и соответствует клинической фазе пролиферации. Определяется незрелая сосудистая ткань, состоящая преимущественно из компактно расположенных эндотелиальных клеток, занимающих практически всю площадь опухоли, формирующих едва различимые сосудистые полости, для визуализации которых может потребоваться использование дополнительных методов исследования (рисунки 2А, Б). Стромальные клетки всегда содержат объемное ядро,

Рисунок 2

ИГ: А – пролиферативная фаза. «Виртуальные просветы сосудов», комбинация из эндотелиоцитов и клеток других линий дифференцировки (окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$); Б – экспрессия GLUT1 в эндотелии (иммуногистохимическое исследование с антителами к GLUT1, $\times 100$); В – начало инволюции (фаза плато). Капилляры с тонкой стенкой и хорошо видимым просветом сосудов, которые располагаются друг напротив друга (окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$); Г – изменения после завершения инволюции. Редкие структуры зрелых резидуальных сосудов среди волокнистой соединительной и жировой ткани (окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$)

Figure 2

Infantile hemangioma: А – proliferative phase. “Virtual vascular lumen”, a mix of endothelial and cells of another differentiation series (staining with hematoxylin and eosin, $\times 100$); Б – expression of GLUT1 in the endothelium (immunohistochemical examination with antibodies to GLUT1, magnification $\times 100$); В – the beginning of involution (plateau phase). Capillaries with a thin wall and a clearly visible lumen of the vessels, which are located opposite each other (staining with hematoxylin and eosin, $\times 100$); Г – changes after the end of involution. Rare structures of mature residual vessels among fibrous connective and adipose tissue (staining with hematoxylin and eosin, $\times 100$)



иногда определяется высокая митотическая активность. Обнаруживается большое количество мастоцитов. Может выявляться периневральная инвазия.

Фаза 2. Опухоль становится более дифференцированной и соответствует клинической стадии стабилизации. Гистологически опухоль имеет дольчатое строение, состоит из четко дифференцированных капилляров с хорошо определяемым просветом, выстланных уплощенным эндотелием (рисунки 2В). Дольки центрированы артериолами и дренирующими венулами. На этой стадии стромальные клетки не определяются.

Фаза 3. Соответствует регрессу. Объем сосудистой пролиферации прогрессивно уменьшается, ткань опухоли замещается волокнистой соединительной и жировой тканью (рисунки 2Г), среди которых определяются редкие отдельно расположенные капилляры [21].

Иммуногистохимическое исследование

В фазе пролиферации клеточная популяция ИГ гетерогенна: полипотентные стволовые клетки (CD133⁺), незрелые эндотелиальные клетки (CD31⁺, CD34⁺), перicyты (SMA⁺), дермальные дендритные клетки (Factor XIIIa⁺), макрофаги, мастоциты, мезенхимальные клетки, миелоидные клетки (рисунки 3).

Эндотелиальные клетки составляют преимущественное большинство и имеют фенотип, общий с эндотелиальными клетками плаценты (Fc-гамма, мерозин, антиген Lewis Y, GLUT1). Самым надежным специфическим маркером, позволяющим провести дифференциальный диагноз с любой другой сосуди-

стой аномалией, является GLUT1, который экспрессируется в 100% случаев ИГ на любой стадии эволюции и не выявляется при других сосудистых новообразованиях (за исключением веррукозной венуло-капиллярной мальформации) [19]. В то же время, как и при любом другом пролиферативном процессе эндотелиальных клеток, ИГ WT1-позитивна.

GLUT1 (Glucose transporter 1; идентифицирован в 2000 г.) – белок, транспортирующий глюкозу. В физиологических условиях он определяется в эндотелиальных клетках сосудов забарьерных тканей, таких как центральная нервная система, сетчатка, плацента, периферические нервы, не определяясь в других сосудах.

WT1 (Wilms tumor gene 1) позволяет провести дифференциальный диагноз между сосудистыми мальформациями и сосудистыми опухолями. Существует мнение, что этот маркер экспрессируется только в пролиферирующих эндотелиальных клетках, но не в компонентах сосудистых мальформаций. В то же время низкая специфичность, вариабельность экспрессии не позволяют универсально трактовать результаты иммуногистохимического исследования с данным антителом.

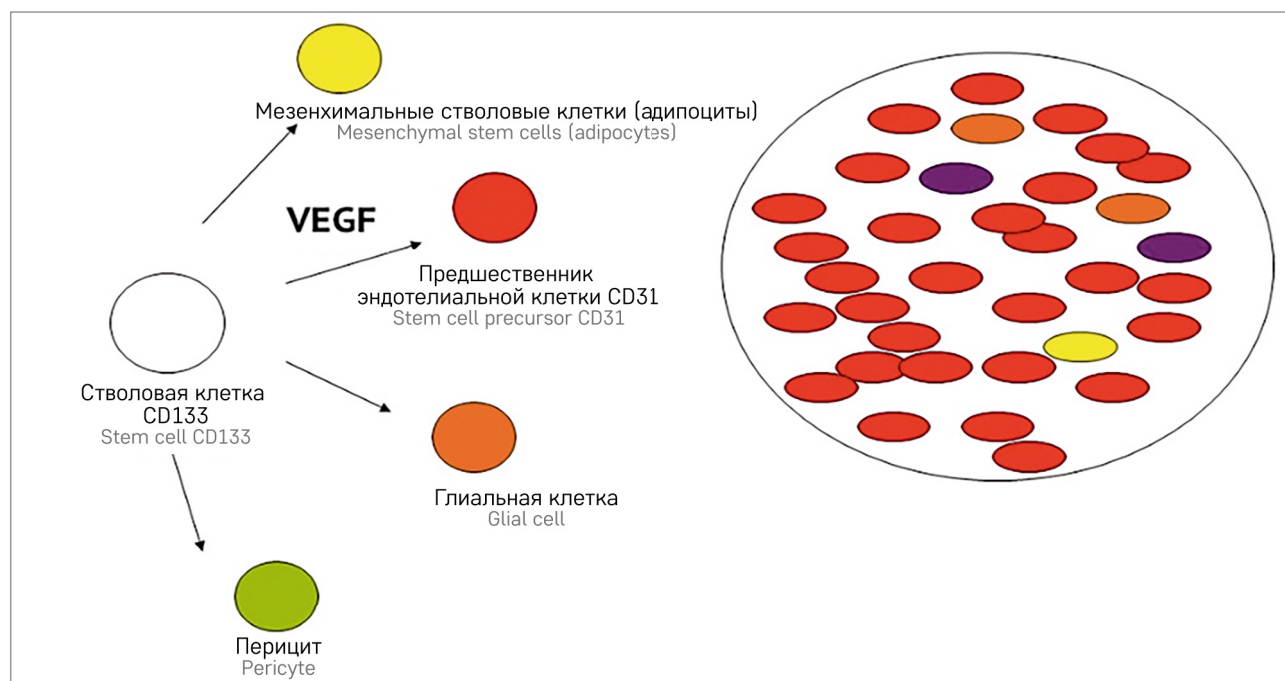
Клинические проявления

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

ИГ имеет плотноэластическую консистенцию, не пульсирует, безболезненна (за исключением случаев, сопровождающихся изъязвлением или периневральной инфильтрацией).

Рисунок 3
Клеточный состав ИГ [22]

Figure 3
Cellular composition of infantile hemangioma [22]



Выделяют три клинические формы:

1. Нодулярная форма, самая частая. Представлена в виде единичного фокуса.

2. Сегментарная форма соответствует определенному анатомическому сегменту/дерматому. С этой формой чаще всего ассоциированы синдромальные формы.

3. Мультифокальная форма – редкая. При наличии менее 5 очагов говорят о гемангиоматозе; при наличии множественных мелких (несколько миллиметров в диаметре) гемангиом речь идет о милиарном гемангиоматозе, который ассоциируется с висцеральными поражениями (чаще всего в патологический процесс вовлекается печень).

Выделяют три типа ИГ в зависимости от глубины поражения кожи и подлежащих тканей:

Рисунок 4
Поверхностная ИГ

Figure 4
Superficial infantile hemangioma



Рисунок 5
Подкожная форма ИГ околоушной области

Figure 5
Subcutaneous infantile hemangioma of the parotid region



1. Поверхностная (кожная) ИГ (рисунок 4). Частота встречаемости 50–60%. Ангиома бугристая, ярко-красная, с четкими краями, выступающая над здоровой кожей, с шероховатой (зернистой) поверхностью, то, что в зарубежной литературе называют туберозной ангиомой, или «клубничной» ангиомой. Этот термин пришел к нам из XVII–XIX веков (по убеждению Гиппократ, мать делает «отметину» на коже плода) [23]. По форме она может быть локальной (нодулярной или сегментарной) или диффузной.

2. Подкожная ИГ (15%) представляет собой опухолевидное образование с четкими границами. Кожа над опухолью от обычной окраски до разной степени синюшности, может быть окружена поверхностной расширенной венозной сетью. Располагается подкожная гемангиома в глубоких слоях дермы и гиподерме. Гемангиома имеет плотнотканную консистенцию, слегка теплая на ощупь, но безболезненная и не пульсирующая (рисунок 5).

3. Смешанная гемангиома (25–35%) имеет две составляющие: поверхностную бугристую и более глубокую – подкожную, которая выходит за границы первой, образуя синюшный ареол [23]. Занимает всю дерму и гиподерму. Как правило, смешанная ИГ представлена в виде единичного фокуса, но бывают и множественные. В последнем случае они могут сочетаться с висцеральным поражением [24, 25].

4. Помимо описанных 3 классических типов ИГ, выделяют еще 4-ю, атипичную. Речь идет о наличии с рождения «образования» на коже, которое напоминает изменения, предшествующие развитию ИГ, так называемые инициальные изменения: слегка возвышающееся эритематозное пятно с тоненькими телеангиэктазиями. Особенностью является практически полное отсутствие пролиферативной фазы (проли-



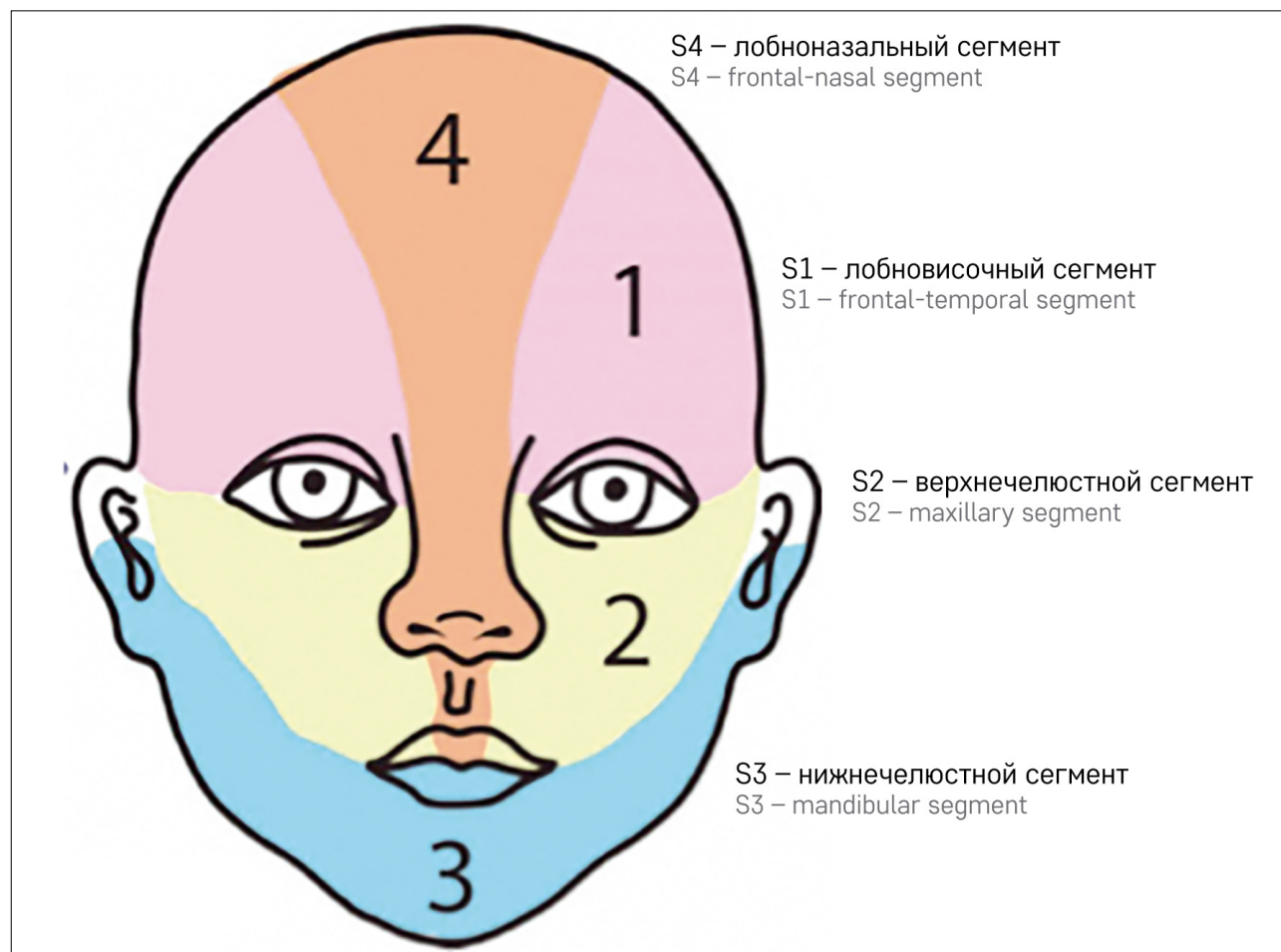
ферации подвергается менее 25% от общей площади поверхности поражения). Эти гемангиомы называют IH-MAG (minimal or arrested growth hemangioma), или abortивная ИГ, или ретикулярная ИГ (классификация ISSVA, 2014 г.). Большинство таких ИГ локализируются на коже нижних конечностей. Пораженная конечность отекает с инфильтрацией подлежащих тканей. Этот тип ИГ чаще сопровождается локальными осложнениями в виде изъязвления и может ассоциироваться с аномалиями мочеполовой системы, а также с сердечной недостаточностью [26].

Размеры

Размеры очень вариабельны: от точечных до гигантских, занимающих полностью конечность или гемиторакс. Большинство (80%) ИГ имеют небольшие размеры, менее 3 см в диаметре, и носят изолированный характер [27]. Что касается гигантских форм, то выделяют 2 типа: располагающиеся поверхностно или пролиферирующие на поверхности и в объеме. Размеры могут быть настолько значимыми, что это приводит к изменениям анатомических границ, особенно при локализации в скуловой области, в околоушной слюнной железе.

Рисунок 6
Сегментарное деление головы [29]

Figure 6
Segmental division of the head [29]



Локализация

Топография самая разнообразная, но чаще всего ИГ локализируются в области головы и шеи: 40% и 20% соответственно [14]. Большинство фокальных форм на лице (76%) располагаются на выступающих участках, 60% из которых – по центральной линии лица [28]. Самые частые – это локализованные формы, лишь 24% – сегментарные. Выделяют 4 зоны расположения, согласно условным сегментам (S1–S4) (рисунок 6).

Некоторые виды локализаций могут указывать на наличие осложнений, при этом сегментарные формы в 11 раз чаще ассоциированы с осложнениями [30].

Эволюция

ИГ представляет собой «динамическую опухоль», т. е. она имеет определенную кинетику, претерпевая три фазы развития: роста, стабилизации и регресса.

Обычно в 70% случаев ИГ при рождении отсутствуют и начинают проявляться лишь через несколько дней/недель после рождения [11, 31]. Необходимо отметить, что подкожные формы могут быть клинически выявлены лишь к возрасту 2–3 месяцев [11].

Инициальные проявления могут быть представлены в 1/3 случаев локальными изменениями кожи в виде бледного пятна, похожего на гамартomu, либо в виде бледно-розового пятна/капиллярной сетки, которые в течение последующих нескольких месяцев прогрессивно растут (фаза ранней и быстрой пролиферации сменяется фазой поздней и медленной пролиферации), принимая вид классической гемангиомы.

Фаза пролиферации завершается обычно к 6–8 мес для поверхностных форм или может продлиться до 9–12 мес для подкожных и смешанных форм ИГ [31]. В 80% случаев ИГ удваивает свой размер, достигая финального объема к возрасту 5 месяцев [31], в 5% случаев размер утраивается. И в очень редких случаях (менее 5%) смешанные ИГ достигают гигантских размеров, а пролиферативная фаза может длиться до 24 мес [30].

Приблизительно с возраста 8–9 месяцев начинается фаза стабилизации, которая длится от 12 до 36 мес. В этот период завершается рост ИГ и начинается медленная спонтанная инволюция, которая клинически манифестирует с центрального просветления у кожных гемангиом и «оседания» мягких тканей при подкожных формах. Иногда фазы роста и регресса могут протекать параллельно. В 60% ИГ полностью регрессирует к 4 годам, в 76% – к 7 годам [11], оставляя после себя резидуальный «дряблый карман» (рисунок 7).

Средний возраст завершения фазы инволюции – 3,5 года [31]. Необходимо отметить, что подкожные формы имеют более медленную инволюцию, чем поверхностные (кожные). Они могут регрессировать не полностью, оставляя после себя фиброзно-жировую ткань. Иногда кожа может

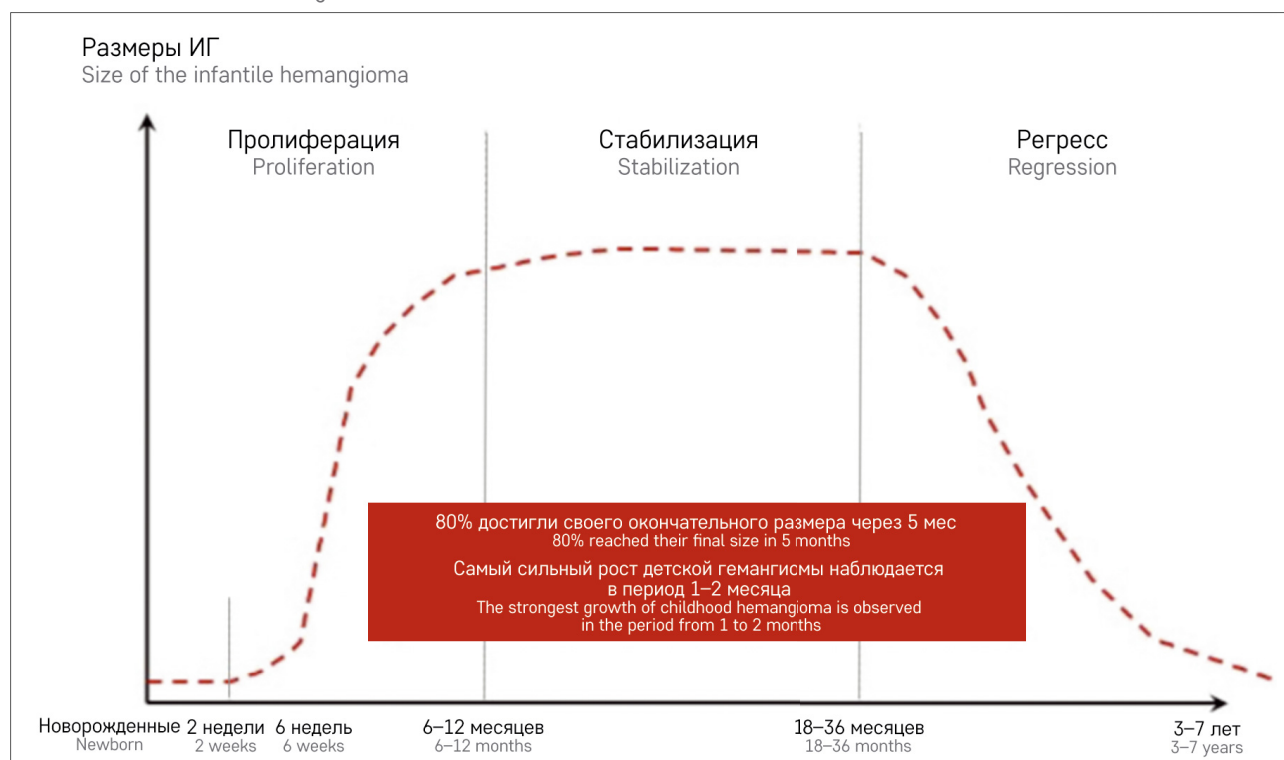
Рисунок 7
Стереотипные этапы эволюции [18]

Figure 7
Stereotypical evolutionary phases [18]



Рисунок 8
Фазы эволюции ИГ [22]

Figure 8
Phases of the infantile hemangioma evolution [22]



стать дряблой из-за потери эластических волокон или развить изменения по типу телеангиэктазий. На рисунке 8 представлены фазы эволюции во временном интервале.

Эти особенности течения гемангиом оправдывают позицию наблюдения при условии, если они не сопровождаются осложнениями.

Осложнения

Несмотря на спонтанный регресс, наблюдающийся в 90% случаев, некоторые виды локализаций могут приводить к развитию осложнений и требовать медицинского вмешательства либо указывать на возможность системных проявлений [11].

1. ИГ, приводящие к локальным осложнениям (некроз/изъязвление/вторичное инфицирование/кровотечение)/функциональным расстройствам

Локальные осложнения являются самыми частыми (16%), по данным одного из крупных исследований [14], и происходят в пролиферативную фазу [11]. Факторами риска являются большой размер сосудистой опухоли, ее клинические характеристики и топография (складки, верхняя губа и шея), а также локализация на границе со слизистыми.

Гемангиомы особых локализаций:

- Пальпебральная. Окклюзия глаза с риском развития страбизма (в 1/3 случаев), астигматизма или амблиопии пораженного глаза. Последнее осложнение является самым грозным и развивается в 43–60% случаев [32]. Внутриорбитальное и ретроорбитальное распространение ИГ может отодвинуть глазное яблоко, привести к инфильтрации глазодвигательных мышц и сдавлению зрительного нерва со вторичной его атрофией. В редких случаях периорбитальное расположение ИГ может сочетаться с ИГ радужной оболочки.

- Лабиальная. Чаще всего отмечается поражение верхней губы (70%), а также перibuкальная локализация. Изъязвления, повышенное слюноотечение, расстройство сосания, а также могут наблюдаться структурные нарушения со стороны формирования челюсти и зубов, особенно при распространенных формах. Локализация ИГ в области нижней губы (25%) может приводить к снижению ее мышечной силы, а в 30% случаев может развиваться поражение подглоточного пространства. При таких локализациях необходим обязательный осмотр ЛОР-врача, а также проведение дополнительных исследований.

- Назальная. Угроза повреждения и деформации нижележащих хрящевых структур в результате некроза, вторичное инфицирование; обтурация воздухоносных путей. Отдельно выделяют ангиому «Сирано» – гемангиома кончика носа. Это подкожная форма. Если гемангиома смешанная, то она может

быть причиной некроза хряща (кончика и крыльев носа), приводя к необратимой деформации.

- Аурикулярная. Закрытие наружного слухового прохода, некроз хрящей ушной раковины, вторичное инфицирование, деформация ушной раковины, потеря слуха.

- Околоушная область. Клинически ИГ представлена унилатеральным поражением в виде небольшой опухолевой массы при рождении, которая очень быстро увеличивается в размере. Опухоль флюктуирующая, подвижная, безболезненная. Она располагается внутри железы, не выходя за пределы капсулы и не затрагивая ни подлежащие ткани, ни кожу. Эта локализация может приводить к поражению лицевого нерва. Инволюция начинается позже, чем обычно, с возраста 18 месяцев с полным исчезновением к 6–8 годам.

- Перинеальная область. Поражение этой области встречается редко, менее чем в 10% случаев, но характеризуется очень высоким риском развития некроза, изъязвления и суперинфекции. Изъязвление отмечается в 80% случаев при достижении ИГ более 5 см³ и лишь в 10%, если площадь поражения не превышает 2 см³ [33]. Клинически они могут быть представлены двумя основными формами: в виде опухоли – четко ограниченные либо поверхностные, но распространенные. Кроме того, данная локализация может сопровождаться различными мальформациями (аногенитальными, урологическими, кожными), включая отсутствие малых половых губ, атрофию больших половых губ, атрезию ануса, наличие липом. Аномалии развития органов промежности могут сопровождаться нарушениями микции и дефекации. Данные аномалии могут потребовать хирургической коррекции после купирования проявлений гемангиомы.

- Сакральная область. Может сочетаться с интраспинальным распространением, что проявляется снижением мышечной силы в ногах, везико-уринарными расстройствами, а также отмечается частая ассоциация со *spina bifida*.

- Околососковая область. ИГ с локализацией в области молочной железы приводит к нарушению ее развития, асимметрии грудной клетки и молочных желез.

- Область стопы/кисти. Нарушение походки/нарушения в хватательных движениях рук.

Спонтанное изъязвление является самым частым осложнением гемангиомы, частота встречаемости составляет 16% [34] и обычно возникает в фазе ее роста/пролиферации (средний возраст 4 месяца) [35]. Изъязвление может привести к кровотечению и вторичному инфицированию (рисунки 9), а также к функциональным расстройствам. Изъязвление всегда сопровождается выраженным болевым синдромом.

Изъязвленные участки в последующем могут оставлять после себя рубцовые изменения. Подкожные формы не склонны к изъязвлению.

При поверхностных и смешанных типах ИГ может развиваться некроз, который бывает спонтанным или спровоцированным лечением (криотерапия, склеротерапия, радиотерапия – данные виды лечения в настоящее время не являются приоритетными) [36]. Некроз манифестирует с появления черной корки, ускоряет процесс инволюции и оставляет после себя заметный рубец. Причина спонтанно возникающего некроза до конца неизвестна, но некоторые авторы предполагают, что при больших гемангиомах в стадии пролиферации может отмечаться недостаточный кровоток, необходимый для питания опухоли. Некоторые цитокины могут быть задействованы, как, например, фактор некроза опухоли (TNF).

Рисунок 9

Смешанный тип ИГ с изъязвлением и вторичным инфицированием

Figure 9
Mixed type of infantile hemangioma with ulceration and secondary infection



Таблица 3

Классификация ISSVA 2014 г.

Table 3
ISSVA 2014 classification

Синдром LUMBER (PELVIS/SACRAL) LUMBER (PELVIS/SACRAL) syndrome	Гемангиома нижней части тела, уrogenитальные аномалии, изъязвления, миелопатия, деформация костей, аноректальные мальформации, артериальные аномалии, почечные аномалии Lower body hemangioma, urogenital anomalies, ulceration, myelopathy, bony deformities, anorectal malformations, arterial anomalies, and renal anomalies
Синдром PHACE/PHACES PHACE/PHACES syndrome	Пороки развития задней черепной ямки, гемангиома, артериальные аномалии, сердечно-сосудистые аномалии, глазные аномалии, аномалии грудины Posterior fosse abnormalities, hemangioma, arteries anomalies, coarctation aortic, eyes troubles/sternal malformations

II. ИГ, сопровождающиеся нарушением витальных функций

Эти осложнения редки, но о них надо обязательно помнить!

- Респираторный дистресс-синдром. Может наблюдаться при локализации сосудистой опухоли в области верхних дыхательных путей, в частности в подглоточном пространстве. Такую локализацию необходимо исключать при наличии гемангиомы в шейно-лицевой области (передняя поверхность шеи, нижняя губа, подбородок), в области сегмента S3. При данной локализации респираторный дистресс-синдром наблюдается в 1/3 случаев [37, 38].

- Сердечная недостаточность. Может развиваться при экстенсивных формах ИГ, а также при поражении печени. Патологический процесс в печени может быть как изолированным, так и сочетаться с поражением кожи [39]. Все эти формы ИГ усиливают обратный венозный возврат крови, увеличивая преднагрузку на правые отделы сердца.

- Желудочно-кишечное кровотечение. В редких случаях массивное желудочно-кишечное кровотечение может осложнить течение ИГ с локализацией на слизистых желудочно-кишечного тракта [40].

III. ИГ, сопровождающиеся структурными и висцеральными аномалиями

Встречаются при так называемых сегментарных ИГ (рисунок 10), которые требуют особого внимания, так как представляют собой не только эстетическую проблему, но и могут скрывать грубые функциональные изменения со стороны других органов и систем.

Два больших синдрома, недавно описанных, ассоциированы с различными висцеральными аномалиями (таблица 3).

Синдром LUMBER: PELVIS (perineal angioma, external genital malformation, lipomyelomeningocele, vesicorenal abnormalities, imperforate anus, skin tag)/SACRAL (spinal dysraphism, anogenital, cutaneous, renal and urologic malformation, angioma lombosacral) ассоциируется наличием огромной гемангиомы пояснично-крестцовой области/перинеальной с ано-гено-то-везико-ренальными и спинальными аномалиями.

Синдром PHACE/PHACES (posterior fosse abnormalities, hemangioma, arteries anomalies, coarctation aortic, eyes troubles/sternal malformations) ассоциируется с гигантской гемангиомой лица, невро-

Рисунок 10
Сегментарная ИГ

Figure 10
Segmental infantile hemangioma



логическими, кардиоваскулярными и окулярными аномалиями [13]. Частота встречаемости составляет 2,3% среди всех гемангиом и 20% среди гемангиом, локализованных в области лица со значимым преобладанием девочек (9:1). В литературе описано около 300 случаев [41]. В таблице 4 представлены диагностические критерии PHACE-синдрома.

IV. ИГ, сопровождающиеся висцеральными поражениями

Сочетание ИГ с висцеральным поражением возможно в трех случаях:

- при наличии множественных гемангиом (более 5);
- при наличии ИГ с локализацией в области промежности;
- при наличии ИГ с локализацией в сакральной области.

Наиболее частым висцеральным органом, который вовлекается в патологический процесс, является печень. Поражение печени необходимо исключить при:

- наличии более 5 гемангиом на коже или
- при так называемом диссеминированном, милиарном гемангиоматозе (симптом «божьей коровки») (рисунок 11).

Таблица 4
Диагностические критерии PHACE-синдрома [18]

Table 4
Diagnostic criteria of PHACE syndrome [18]

Тип аномалии Anomaly type	Описание Description	Обследования Examinations
Задняя черепная ямка/ другие аномалии ЦНС Posterior cranial fossa/other CNS abnormalities	Аномалия Денди–Уокера, аномалии развития полушарий и/или червя мозжечка, арахноидальная киста Dandy–Walker anomaly, developmental anomalies of the hemispheres and / or cerebellar worm, arachnoid cyst	МРТ/МРТ в ангиорежиме, КТ-ангиография MRI/MRA, CT angiography
Гемангиома Hemangioma	Сегментарная гемангиома лица S1 + S4 или S3 в ¾ случаев (гемифациальная, возможно, билатеральная). Другие возможные локусы: орбита, гортань, подглоточное пространство, гемисфера ЦНС, внутреннее ухо, хориоидальная оболочка орбиты, менингеальная оболочка Segmental hemangioma of the face S1 + S4 or S3 in ¾ cases (hemifacial, possibly bilateral). Other possible loci: orbit, larynx, subpharyngeal space, CNS hemisphere, inner ear, orbital choroid, meningeal membrane	МРТ, ларингоскопия, УЗИ органов брюшной полости MRI, laryngoscopy, abdominal ultrasound
Аномалии артериальных сосудов Abnormalities of arterial vessels	Интракраниальные сосуды (вертебральная, внутренняя/наружная сонная артерия), стенозы церебральных сосудов, аномалии развития (агенезия, гипоплазия, aberrантные сосуды, персистенция эмбриональных сосудов, аневризмы, коллатеральные сосуды, аномалия Мойя-Мойя) Экстракраниальные сосуды (подключичная, аорта и т.д.) Intracranial vessels (vertebral, internal/external carotid artery), stenosis of cerebral vessels, developmental anomalies (agenesis, hypoplasia, aberrant vessels, persistence of embryonic vessels, aneurysms, collateral vessels, Moya-Moya anomaly) Extracranial vessels (subclavian, aorta and others)	МРТ и МРТ в ангиорежиме, ангио-томоденситометрия шейно-грудного отдела. Эхокардиография, УЗИ сосудов шеи MRI and MRA, angio-tomodensitometry of the cervicothoracic region. Echocardiography, ultrasound dopplerography of the vessels of the neck
Аномалии сердечно-сосудистой системы Abnormalities of the cardiovascular system	Коарктация аорты. Врожденные мальформации (артериальный проток, атрезия трикуспидального клапана, тетрада Фалло, дефекты межпредсердной/межжелудочковой перегородки, стеноз легочного ствола) Coarctation of the aorta. Congenital malformations (ductus arteriosus, tricuspid valve atresia, tetrad of Fallot, atrial/interventricular septal defects, pulmonary stenosis)	Эхокардиография, УЗИ сосудов шеи, КТ-ангиография Echocardiography, ultrasound dopplerography, CT angiography
Аномалии глазного яблока Eyeball anomalies	Колобома, микрофтальмия, гипоплазия оптического нерва, глаукома и др. Coloboma, microphthalmia, optic nerve hypoplasia, glaucoma and others	Офтальмологический осмотр, МРТ Ophthalmological examination, MRI
Срединные аномалии грудной клетки и брюшной стенки Median chest and abdominal wall abnormalities	Дефекты грудины (воронкообразная грудь, расщелина грудины), аномалия белой линии живота Sternal defects (funnel chest, cleft sternum), abdominal white line anomaly	Рентгенография, УЗИ X-ray, ultrasound
Другие значимые аномалии Other significant anomalies	Гипопитуитаризм, гипотиреоз Hypopituitarism, hypothyroidism	Эндокринный статус Endocrine status

Примечание. ЦНС – центральная нервная система; МРТ – магнитно-резонансная томография; КТ – компьютерная томография; УЗИ – ультразвуковое исследование; УЗДГ – ультразвуковая доплерография.

Note. CNS – central Nervous system; MRI – magnetic resonance imaging; CT – computed tomography.

Образования в печени при ИГ представлены мультифокальными либо диссеминированными формами [39]. Они могут сопровождаться не только сердечно-сосудистой недостаточностью (см. выше) и абдоминальным компартмент-синдромом, которые чаще встречаются при диффузных формах [42], но также тяжелой приобретенной гипофункцией щитовидной железы, связанной с повышенной активностью йодотрионин дейодиназы 3-го типа (фермент, разрушающий тироксин) и/или секрецией ТТГ-подобного фактора-тиротропина (TSH-like factor) [43]. Гипотиреоз наблюдается всегда при диффузных формах и в 21,4% случаев при мультифокальном поражении [42]. Гипофункция щитовидной железы регрессирует параллельно инволюции гемангиом в печени [44]. Встречается также сочетание ИГ печени с тяжелой тромбоцитопенией, которая также разрешается параллельно регрессии гемангиом. Инволюция гемангиом печени происходит параллельно инволюции гемангиом на коже.

V. Остаточные проявления ИГ

В своем исходе ИГ в 55–65% случаев могут привести к значимым локальным изменениям мягких тканей [45, 46]:

- телеангиоэктазии (84,3%);
- фиброзно-жировые изменения (47,1%);
- атрофия кожи (32,6%);

Рисунок 11
Милиарный гемангиоматоз

Figure 11
Miliary hemangiomatosis



- рубцовые изменения (рисунок 12);

Чаще всего вторичные рубцовые изменения наблюдаются при смешанных формах ИГ. Факторами

Рисунок 12
Вторичные рубцовые изменения в области ушной раковины

Figure 12
Secondary cicatricial changes in the auricle area



риска также являются объем поверхностной части ИГ и характеристики ее рельефа (бугристая поверхность по типу «булыжной мостовой») [11, 45].

Диагностика

Дополнительные исследования, такие как УЗИ/УЗДГ, МРТ с контрастным усилением, позволяют дополнить клиническую картину в сомнительных случаях. То есть это референсные исследования, необходимые для подтверждения диагноза. Они могут быть необходимы, например, при подкожной локализации опухоли.

При УЗИ можно определить опухолевую массу, четко отграниченную, гетерогенную. Опухоль имеет гипervasкулярный характер с низким сопротивлением в артериальных сосудах внутри опухолевой массы [47]. Основные сложности в ультразвуковой диагностике возникают при проведении дифференциального диагноза с сосудистыми артериовенозными мальформациями, врожденными гемангиомами. Отличительная особенность последних – большее количество сосудов и наличие кальцинатов [48]. Безусловно, ультразвуковая картина меняется в ходе инволюции ИГ [48].

МРТ-исследование может быть рекомендовано при сохранении сомнений после проведения УЗИ. МРТ должна проводиться с контрастным усилением. ИГ представлена четко отграниченной опухолевой массой с изоинтенсивным сигналом на T1 и с гиперинтенсивным сигналом на T2. Отмечается усиленное контрастирование с повышенным кровотоком после

введения контрастного вещества [47]. Диффузионно-взвешенное изображение позволяет отличить ИГ от злокачественной опухоли [49].

Если совокупность клинко-инструментальных данных не позволяет окончательно подтвердить диагноз, необходимо прибегнуть к биопсии опухоли, предварительно оценив возможные риски проведения данного исследования (например, вероятность развития тяжелого кровотечения). Безусловно, гистологическое исследование позволит установить диагноз.

Дополнительные исследования также необходимы при наличии осложненных форм ИГ: при подозрении на вовлечение в патологический процесс внутренних органов и возможных ассоциированных аномалий.

В подавляющем большинстве случаев (90%) диагноз ставится на основании анамнеза (время появления первых признаков заболевания), характерных признаков опухоли и клинического течения заболевания.

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>

Литература

- Mulliken J.B., Glowacki J. Hemangiomas and vascular malformations in infants and children: a classification based on endothelial characteristics. *Plast Reconstr Surg* 1982; 69 (3): 412–22.
- Enjolras O., Mulliken J.B. Vascular tumors and vascular malformations (new issues). *Adv Dermatol* 1997; 13: 375–423.
- Vikkula M., Boon L.M., Mulliken J.B., Olsen B.R. Molecular genetics of vascular malformations. *Matrix Biol* 2006; 20 (5–6): 327–35.
- Léauté-Labrèze C., Haper J.I., Hoeger P.H. Infantile haemangioma. *Lancet Lond Engl* 2017; 390 (10089): 85–94.
- Wassef M., Vanwijk R., Clapuyt P., Boon L., Magalon G. Tumeurs et malformations vasculaires, classification anatomopathologique et imagerie. *Ann Chir Plas Esth* 2006; 51: 263–81.
- Drolet B.A., Frommelt P.C., Chamlin S.L., Haggstrom A., Bauman N.M., Chiu Y.E., et al. Initiation and use of propranolol for infantile hemangioma: report of a consensus conference. *Pediatrics* 2013; 131 (1): 128–40. DOI: 10.1542/peds.2012-1691
- Léauté-Labrèze C., Sans-Martin V. Hemangiome infantile. *Presse Méd* 2010; 39 (4): 499–510.
- North P.E., Waner M., Mizeracki A., Mihm M.C. GLUT-1: a newly discovered immunohistochemical marker for juvenile hemangiomas. *Hum Pathol* 2000; 31 (1): 11–22.
- North P.E., Waner M., Mizeracki A., Mrak R.E., Nicolas R., Kincannon J., et al. A unique microvascular phenotype shared by juvenile hemangiomas and human placenta. *Arch Dermatol* 2001; 137: 559–70.
- Darrow D.H., Greene A.K., Mancini A.J., Nopper A.J. *Dermatology the SO, Surgery S on O-H and N*, et al. Diagnosis and management of infantile hemangioma. *Pediatrics* 2015; 136 (4): e1060–104.
- Léauté-Labrèze C., Prey S., Ezzedine K. Infantile hemangioma: Part I. Pathophysiology, epidemiology, clinical features, life cycle and associated structural abnormalities. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011; 25 (11): 1245–53.
- Drolet B.A., Swanson E.A., Frieden I.J. Hemangioma Investigator Group. Infantile hemangiomas: an emerging health issue linked to an increased rate of low birth weight infants. *J Pediatr* 2008; 153 (5): 712–5, 715.e1.
- Frieden I.J., Haggstrom A.N., Drolet B.A., Mancini A.J., Friedlander S.F., Boon L., et al. Infantile hemangiomas: current knowledge, future directions. Proceedings of a research workshop on infantile hemangiomas, April 7–9, 2005, Bethesda, Maryland, USA. *Pediatr Dermatol* 2005; 22 (5): 383–406.
- Haggstrom A.N., Drolet B.A., Baselga E., Chamlin S.L., Garzon M.C., Horii K.A., et al. Prospective study of infantile heman-

- giomas: clinical characteristics predicting complications and treatment. *Pediatrics* 2006; 118 (3): 882–7.
15. Chaff J.E., Steckman D.A., Blei F. Genetics of vascular anomalies: an update. *Lymphat Res Biol* 2003; 1 (4): 283–9.
 16. Enjolras O. Tumeurs vasculaires. *Rev Prat* 2003; 53: 899–905.
 17. Stefan D., Weltin D., Zaric V., Chapelon D., Da Silva A., Lugniers C. Angiogenèse: de la physiologie à la thérapeutique. *Réanum Urgences* 2000; 9: 534–44.
 18. Peschechodova E. Prise en charge de l'hémangiome infantile. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. 2015: 19.
 19. Léauté-Labrèze C., Taïeb A. Efficacy of beta-blockers in infantile capillary haemangiomas: the physiopathological significance and therapeutic consequences. *Ann Dermatol Vénéréol* 2008; 135 (12): 860–2.
 20. Wechsler J. Pathologie cutanée tumorale. 2016: 278–9.
 21. Léauté-Labrèze C., Sans-Martin V. Infantile hemangioma. *Press Médicale Paris Fr* 1983. 2010; 39 (4): 499–510.
 22. Leriverend V. Evalolution des conditions d'usage et de sécurité d'emploi du chlorhydrate de propranolol dans le traitement des hémangiomes infantiles. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. 2016; 034.
 23. Casanova D., Norat F., Bardot J., Magalon G. Les hémangiomes cutanés: aspects cliniques. *Ann Chir Plast Esthet* 2006; 51: 287–92.
 24. Philandrianos C., Degardin N., Casanova D., Petit P., Bartoli J.-M., et al. Diagnostic et prise en charge des anomalies vasculaires. *Ann Chir Plast Esthet* 2011; 56 (3): 241–53.
 25. Laurian C., Enjolras O., Bisdorff A., Fraceschi C., Marteau V. Hémangiomes et malformations vasculaires. *Elsevier Masson Consulte* 2014; 9 (2): 13.
 26. Bianchi A., Amadori S., Bassi M., Neri I., Campobassi A., Marchetti C. Congenital Ulcerated Lip Hemangioma Treated with a Cleft Lip Technique. *Cleft Palate Craniofacial J* 2017; 54: 231–4.
 27. Nakayama H. Clinical and histological studies of the classification and the natural course of the strawberry mark. *J Dermatol* 1981; 8 (4): 277–91.
 28. Warner M., North P.E., Scherer K.A., Frieden I.J., Warner A., Mihm M.C. The nonrandom distribution of facial hemangiomas. *Arch Dermatol* 2003; 139 (7): 869–75.
 29. Haggstrom A.N., Garson 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: 418–26.
 30. 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.
 31. Chang L.C., Haggstrom A.N., Drolet B.A., Baselga E., Chamlin S.L., Garzon M.C., et al. Growth characteristics of infantile hemangiomas: implications for management. *Pediatrics* 2008; 122 (2): 360–7.
 32. Dubois J., Milot J., Jaeger B.I., Cuaig C.M., Rousseau E., Powell J. Orbit and eyelid hemangiomas: is there a relationship between location and ocular problems? *J Am Acad Dermatol* 2006; 55 (4): 614–9.
 33. Stockman A., Boralevi F., Taïeb A., Léauté-Labrèze C. Perineal hemangiomas: retrospective analysis of 49 cases regarding clinical features, complications, associations and treatment. Poster, 7th Congress European Society for Pediatric Dermatology, 21–23 November 2002.
 34. 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. *Pediatrics* 2006; 117 (3): 698–703.
 35. Chamlin S.L., Haggstrom A.N., Drolet B.A., Baselga E., Frieden I.J., Garzon M.C., et al. Multicenter prospective study of ulcerated hemangiomas. *J Pediatr* 2007; 151 (6): 684–9.
 36. Lemarchand-Venencie F. Classification des angiomes: hémangiomes et malformations vasculaires superficielles. *Rev Prat* 1992; 42 (16): 1998–2004.
 37. Rahbar R., Nicollas R., Roger G., Triglia J.-M., Garabedian E.-N., McGill T.J., et al. The biology and management of subglottic hemangioma: past, present, future. *Laryngoscope* 2004; 114 (11): 1880–91.
 38. Badi A.N., Kerschner J.E., North P.E., Drolet B.A., Messner A., Perkins J.A. Histopathologic and immunophenotypic profile of subglottic hemangioma: multicenter study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2009; 73 (9): 1187–91.
 39. Christison-Lagay E.R., Burrows P.E., Alomari A., Dubois J., Kozakewich H.P., Lane T.S., et al. Hepatic hemangiomas: subtype classification and development of a clinical practice algorithm and registry. *J Pediatr Surg* 2007; 42 (1): 62–7; discussion 67–68.
 40. Levy A.D., Abbott R.M., Rohrmann C.A., Frazier A.A., Kende A. Gastrointestinal hemangiomas: imaging finding with pathologic correlation in pediatric and adult patients. *AJR Am J Roentgenol* 2001; 177 (5): 1073–81.
 41. 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.
 42. Kulungowski A.M., Alomari A.I., Chawla A., Christison-Lagay E.R., Fishman S.J. Lessons from a liver hemangioma registry: subtype classification. *J of Pediatr Surg* 2012; 47: 165–70.
 43. Huang S.A., Tu H.M., Harney J.W., Venihaki M., Butte A.J., Kozakewich H.P.W., et al. Severe hypothyroidism caused by type 3 iodothyronine deiodinase in infantile hemangiomas. *N Engl J Med* 2000; 343: 185–9.
 44. Konrad D., Ellis G., Perlman K. Spontaneous regression of severe acquired infantile hypothyroidism associated with multiple liver hemangiomas. *Pediatrics* 2003; 112: 1424–6.
 45. Baselga E., Roe E., Coulie J., Munoz F.Z., Boon L.M., Cuaig C.M., et al. Risk Factors for Degree and Type of Sequelae after involution of untreated hemangiomas of infancy. *JAMA Dermatol* 2016; 152 (11): 1239–43.
 46. Bauland C.G., Lüning T.H., Smit J.M., Zeebregts C.J., Spauwen P.H.M. Untreated hemangiomas: growth pattern and residual lesions. *Plast Reconstr Surg* 2011; 127 (4): 1643–8.
 47. Neri I., Virdi A., Balestri R., Moneghini L., Misciali C., Patrizi A. Perinatal congenital ulcerated infantile haemangioma, with minimal proliferative phase and rapid involution. A new morphological variant of IH? *G Ital Dermatol Venereol* 2018; 153 (2): 298–300.
 48. Restrepo R., Palani R., Cervantes L.F., Duarte A.-M., Amjad I., Altman N.R. Hemangiomas revisited: the useful, the unusual and the new. Part 1: overview and clinical and imaging characteristics. *Pediatr Radiol* 2011; 41: 895–904.
 49. Kitami M. Diffusion-weighted imaging as a routine MRI protocol for the evaluation of infantile hemangioma. *Clin Imaging* 2017; 46: 121. DOI: 10.2016/j.clinimag.2017.07.015

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-207-217

Анализ тромбоцитарной РНК: неинвазивный метод изучения экспрессии опухолевых генов

И.П. Тесаков¹, А.А. Мартыанов^{2,3}, А.Е. Друй², А.Н. Свешникова^{2,3}¹ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва³ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН, Москва

В настоящее время много внимания уделяется неинвазивным методам диагностики и мониторинга онкологических заболеваний. Одним из перспективных методов является секвенирование РНК тромбоцитов, «обученных» опухоли (tumor-educated platelets), в которых, как было ранее установлено, изменяется мРНК-репертуар при различных онкологических заболеваниях. Таким образом, тромбоциты могут содержать информацию о молекулярно-генетических характеристиках опухоли. В настоящем обзоре собраны современные представления о механизмах взаимодействия между опухолевыми клетками и тромбоцитами, а также рассмотрены возможности применения методов анализа транскриптома тромбоцитов для диагностики и оценки динамики состояния опухоли, в частности ответа на проводимую терапию, а также существующие на сегодняшний день ограничения для широкого внедрения этого метода в клиническую практику.

Ключевые слова: транскриптом тромбоцита, транскриптом опухоли, секвенирование РНК, жидкостные биопсии

Тесаков И.П. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 207–217. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-207-217

Analysis of platelet RNA: a non-invasive method for studying the expression of tumor genes

I.P. Tesakov¹, A.A. Martyanov^{2,3}, A.E. Druy², A.N. Svshnikova^{2,3}¹Lomonosov Moscow State University, Moscow²Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow³Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, RAS, Moscow

Nowadays much attention is paid to non-invasive methods of cancer diagnostics and monitoring. One of the promising methods is the sequencing of platelet RNA (tumor-educated platelets), in which, as it was previously established, the mRNA repertoire changes in various oncological diseases. Thus, platelets can contain information about the molecular genetic characteristics of tumor. This review summarizes the current understanding of the mechanisms of interaction between tumor cells and platelets, and also discusses the possibilities of using platelet transcriptome analysis methods for diagnosing and assessing the dynamics of the tumor state, in particular, in response to therapy, as well as the current limitations for a wide range of introduction of this method into clinical practice.

Key words: platelet transcriptome, tumor transcriptome, RNA sequencing, fluid biopsies

Tesakov I.P., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 207–217. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-207-217

Онкологические заболевания на сегодняшний день являются ведущей причиной смертности в мире. «Золотым стандартом» молекулярно-генетического анализа солидных опухолей является изучение материала тканевых биопсий [1]. Однако эта инвазивная процедура сопряжена с рядом ограничений [2, 3], что сдерживает применение метода для мониторинга состояния опухоли [4]. В частности, существенным ограничением тканевой биопсии является возможность получить молекулярно-генетическую информацию лишь об ограниченном участке опухоли или метастаза, в то время как для ряда злокачественных новообразований, например для рака простаты [5], молочной железы [6] и др. [7], установлена генетическая неоднородность не только между

первичным очагом и метастазами, но и между клетками, ограниченными одной локализацией.

Обойти некоторые из ограничений тканевой биопсии могут так называемые жидкостные биопсии [8], когда из жидкостей организма проводится выделение различных опухолевых маркеров, таких как специфические белки, циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), циркулирующие нуклеиновые кислоты (цДНК и цРНК) и внеклеточные везикулы, вместе составляющие «циркулом» [9].

Одной из составляющих «циркулома» является РНК, содержащаяся в тромбоцитах крови [10]. Тромбоциты – безъядерные клеточные фрагменты, производящиеся в костном мозге из мегакариоцитов и живущие в кровотоке не более 7 дней [11]. Несмотря

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 25.01.2021

Принята к печати 26.02.2021

Контактная информация:

Анастасия Никитична Свешникова, заведующая лабораторией внутриклеточной сигнализации и системной биологии ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН
Адрес: 109029, Москва, ул. Средняя Калитниковская, 30
E-mail: a.svshnikova@physics.msu.ru

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 25.01.2021

Accepted 26.02.2021

Correspondence:

Anastasia N. Svshnikova, head of the Intracellular signalling and systems biology laboratory, Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, RAS
Address: 30 Srednyaya Kalitnikovskaya st., 109029 Moscow, Russia
E-mail: a.svshnikova@physics.msu.ru

на отсутствие ядра, еще в 1966 г. Warshaw и соавт. впервые высказали предположение [12], а в 1967–1968 гг. Booyse и соавт. установили, что в тромбоцитах присутствует матричная (мРНК) и имеет место процесс трансляции [13, 14]. Через 20 лет было доказано участие мРНК в синтезе белков в тромбоцитах [15], а в 2005 г. Denis и соавт. показали, что в тромбоцитах присутствуют функциональные сплайсосомы, состоящие из малых ядерных РНК, белков сплайсинга и эндогенных пре-мРНК [16]. Сплайсосома может под воздействием различных стимулов запускать процесс сплайсинга пре-мРНК. Интересно, что в тромбоцитах присутствует более 8000 транскриптов, при этом как созревание пре-мРНК, так и трансляция зависят от активации тромбоцита [17].

Считается, что тромбоциты сохраняют цитоплазматическую пре-мРНК мегакариоцитов, при этом некоторые из мегакариоцитарных пре-мРНК превращаются в зрелые мРНК и участвуют в белковом синтезе [18]. Однако в белковый состав тромбоцита также могут входить «захваченные» из внешней среды белки, и белки, транскрипция которых происходит с мРНК, появившихся в цитоплазме тромбоцитов вследствие эндоцитоза [19]. Ранее было установлено [20, 21], что присутствующая в тромбоцитах РНК различается по своему составу у здоровых доноров и пациентов с онкологическими заболеваниями. Одновременно были сделаны предположения о том, что опухолевые клетки способны взаимодействовать с тромбоцитами посредством различных молекулярных механизмов [21]. Перенос секретируемых опухолью молекул, преимущественно РНК, в тромбоциты, приводящий к трансформации наивных тромбоцитов в проонкогенные, был назван «обучением» тромбоцитов [22]. Предположение о том, что «обученные» опухолью тромбоциты (tumor-educated platelets [22]) содержат опухолевую РНК [21], делает возможным рассмотрение анализа тромбоцитарной РНК в качестве нового минимально инвазивного, безболезненного и быстрого способа исследования, позволяющего получить интегративные данные о гетерогенных субпопуляциях опухолевых клеток в первичном очаге и в метастазах [23]. Однако недостаточная изученность механизмов взаимодействия тромбоцитов и клеток опухоли [24] и процессов попадания опухолевой РНК в тромбоциты [10] ставит под сомнение получаемую таким методом информацию [25]. В настоящем обзоре мы рассматриваем потенциальные достоинства и недостатки диагностики онкологических заболеваний на основе анализа тромбоцитарной РНК.

Механизмы взаимодействия тромбоцитов с опухолевыми клетками. Роль тромбоцитов в пролиферации и метастазировании опухолей

Известно, что функции тромбоцитов не сводятся к системе гемостаза [26]. Некоторые авторы называют

тромбоциты «дозорными» иммунной системы, так как они играют важную роль в обнаружении бактерий в циркулирующей крови, а также частично регулируют экстравазацию иммунных клеток в ответ на внешние и внутренние стимулы [10, 27, 28]. Также тромбоциты способны взаимодействовать с опухолевыми клетками [26, 29, 30]. Установлено, что тромбоциты играют важную роль в эпителиально-мезенхимальной трансформации опухолевых клеток [31], миграции их в кровеносные сосуды [32], создании окружения для опухолевых клеток [33] и защите их от клеток иммунной системы [34], что в конечном счете способствует метастазированию опухоли из первичного очага [35, 36].

Взаимодействие тромбоцитов с клетками опухоли обеспечивается посредством растворимых активаторов и мембранных белков

Одним из первых механизмов активации тромбоцитов является генерация клетками опухоли растворимых активаторов тромбоцитов – аденозиндифосфата (АДФ) и тромбоксана А₂ (ТХА₂), а в некоторых случаях и тромбина [37]. В частности, Boukerche и соавт. показали, что клетки линии меланомы M₃Da вызывают необратимую агрегацию тромбоцитов *in vitro* за счет присутствующего в среде (вероятно, секретируемого клетками) АДФ [38]. В этом же исследовании клетки меланомы M₁Do вызывали медленную обратимую агрегацию, а клетки M₄Be не вызывали агрегацию тромбоцитов вовсе. В супернатанте клеток M₁Do наблюдался меньший уровень АДФ, чем у M₃Da, а в супернатанте M₄Be АДФ не определялся вовсе [38]. В исследовании Hainmüller и соавт. [39], напротив, агрегация тромбоцитов в ответ на клетки разных линий рака ингибировалась гирудином (ингибитор тромбина), но не изменялась в ответ на апиразу (ингибитор АДФ). Дальнейшие эксперименты показали зависимость процесса агрегации тромбоцитов от генерации тромбина в системе [39].

В клетках колоректального рака [40], рака легкого [41], папиллярного рака щитовидной железы [42] и остеосаркомы [43] наблюдается высокая экспрессия гена тромбоксан-синтазы, синтезирующей активатор тромбоцитов ТХА₂ [44]. Установлено, что в клетках колоректального рака продукция ТХА₂ необходима для их пролиферации [40]. De Leval и соавт. показали, что фармакологическое ингибирование как тромбоксан-синтазы, так и рецепторов к тромбоксану полностью подавляет агрегацию тромбоцитов в присутствии клеток остеосаркомы линии MG-63 [43]. В исследовании *in vivo* было показано, что ингибирование синтеза ТХА₂ приводит к снижению метастазирования рака легкого [45].

Упомянутая выше генерация тромбина в присутствии опухолевых клеток [37] связана с экспрессией ими тканевого фактора (ТФ) – трансмембранного

гликопротеина, экспрессируемого в норме клетками практически всех тканей организма (за исключением эндотелия и клеток крови) [46]. Контакт ТФ, которым богаты некоторые опухоли, с плазмой крови приводит к образованию комплекса внешней теназы [47], генерации тромбина [48], агрегации тромбоцитов и в конечном итоге к тромбозам у онкологических больных [49]. Liu и соавт. установили на мышинной модели рака молочной железы, что повышение экспрессии ТФ опухолевыми клетками является критически важным для прогрессирования опухоли [50].

Агрегация тромбоцитов как в норме, так и при патологии происходит через специфические тромбоцитарные гликопротеины IIb/IIIa (GPIIb/IIIa, интегрин $\alpha_{IIb}\beta_3$), связывающиеся с белком плазмы – фибриногеном [51]. *In vitro* было показано, что блокирование интегрина $\alpha_{IIb}\beta_3$ снижает адгезию тромбоцитов к клеткам колоректального рака линий CT26 и HCT8 [52]. Эксперименты *in vivo* на мышинных моделях показали, что антитела против фактора фон Виллебранда (лиганд тромбоцитарного рецептора GPIIb и интегрина $\alpha_{IIb}\beta_3$) предотвращают развитие легочных метастазов на 53–64% и 45% случаев соответственно [52].

Другим адгезионным для тромбоцитов белком на поверхности опухоли является подопланин [53]. Обычно подопланин считается специфическим маркером лимфатических сосудов [54]. Известно, что для некоторых типов злокачественных опухолей (плоскоклеточные карциномы [55], саркомы [56], ряд опухолей головного мозга [57]) характерна высокая экспрессия подопланина на поверхности клеток. Подопланин способен напрямую связываться с лектин-подобным рецептором C-типа 2 (CLEC-2), который экспрессируется на поверхности миелоидных клеток, NK-клеток, а также тромбоцитов [58]. Связывание CLEC-2 с подопланином приводит к активации тромбоцитов, включающей секрецию АДФ и синтез TXA_2 [59, 60]. Такаги и соавт. установили, что взаимодействие между подопланином, экспрессируемым на поверхности клеток рака легкого, и CLEC-2 тромбоцитов обеспечивает пролиферацию опухолевых клеток *in vitro*, а также способствует метастазированию в мышинной модели [61]. Антитела к подопланину продемонстрировали эффективность в предотвращении развития метастазов рака легкого у мышей [61].

Способность тромбоцитов поглощать опухолевую мРНК в составе микровезикул

Внеклеточные везикулы – общий термин, используемый для обозначения трех типов везикул: микрочастиц, экзосом и апоптотических телец [37]. Микровезикулы представляют собой небольшие (диаметром от 50 до 1000 нм) мембранные пузырьки, которые отделяются от клеток под действием различных стимулов во время апоптоза или вследствие опухолевой трансформации [37]. Одной из

главных функций микровезикул является обеспечение межклеточной коммуникации [62]. Внеклеточные везикулы могут содержать различные биологические молекулы, включая все известные на сегодняшний день типы РНК, различные белки и липиды [62].

Nilsson и соавт. [21] описали прямой захват РНК тромбоцитами, коинкубированными с микровезикулами опухолевых клеток. Микровезикулы клеток глиобластомы и рака предстательной железы (клеточные линии U87/U87-EGFRvIII и 22Rv1 соответственно) были выделены с помощью дифференцированного центрифугирования по методике, описанной Skog и соавт. [63], мечены красителем PKH67 и коинкубированы с тромбоцитами, выделенными из крови здоровых доноров. После этого тромбоциты были обработаны РНКазой в целях деградации всей РНК, не захваченной тромбоцитами. Захват опухолевых микровезикул тромбоцитами был установлен с помощью конфокальной микроскопии. Результаты были подтверждены полимеразной цепной реакцией (ПЦР) с обратной транскрипцией: в тромбоцитах здоровых доноров после инкубации с микровезикулами клеток глиобластомы была обнаружена мРНК мутантного EGFRvIII (мутантный вариант гена мембранного рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), который наблюдается при глиобластоме [64]) [21].

Тромбоциты способствуют эпителиально-мезенхимальному переходу и метастазированию опухолевых клеток

Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) – приобретение эпителиальными клетками опухоли мезенхимального фенотипа путем подавления экспрессии генов эпителиальных маркеров (например, E-кадгерин), увеличения экспрессии генов, ответственных за мезенхимальный фенотип (виментин, фибронектин), усиления клеточной подвижности за счет реорганизации цитоскелета [65]. Тромбоциты могут индуцировать ЭМП в опухолевых клетках путем высвобождения ряда медиаторов, таких как PDGF [31], трансформирующий фактор роста бета (TGF- β) [66], PGE_2 [67].

Ранее было установлено, что при активации тромбоциты способны секретировать TGF- β 1 [68]. Labelle и соавт. на мышинных моделях рака толстой кишки и молочной железы показали, что TGF- β 1, секретруемый тромбоцитами, способствует запуску в опухолевых клетках сигнальных путей TGF β /Smad и NF- κ B, что, в свою очередь, приводит к изменению их фенотипа и увеличению метастатического потенциала [31]. Cho и соавт. на культуре клеток рака яичника продемонстрировали, что пролиферация опухолевых клеток в присутствии тромбоцитов подавляется после инкубации последних с блокирующими антителами против TGF- β 1, а также после подавления экспрессии рецептора TGF- β R1 на опухолевых клетках [69].

Zhang и соавт. установили роль белка TBK1 (TANK-связывающей киназы 1) в качестве медиатора тромбоцит-индуцированного ЭМП [70]. Будучи киназой, способной фосфорилировать NF-κB, в здоровой ткани этот белок играет роль в регуляции клеточной пролиферации и апоптоза [71]. Установлено, что в опухолевых клетках TBK1 участвует в регуляции ангиогенеза [72], а также обеспечивает проведение антиапоптотических сигналов путем активации NF-κB [73]. Zhang и соавт. показали, что инкубация клеток рака молочной железы линий Ер5 и MCF10A с тромбоцитами приводит к запуску ЭМП в опухолевых клетках путем активации TBK1 и p56 (транскрипционного фактора семейства NF-κB). Инактивация TBK1 с помощью малой интерферирующей РНК в значительной степени тормозит тромбоцит-индуцированный ЭМП и активацию p56 в обеих клеточных линиях [70].

Radziwon-Balicka и соавт. с помощью метода маркировки стабильных изотопов аминокислотами (SILAC) показали, что во время инкубации тромбоцитов с клетками колоректального рака линий Сасо-2 и HT29 происходит секреция тромбоспондина-1 преимущественно тромбоцитами и кластерина – как тромбоцитами, так и опухолевыми клетками. Авторы установили, что тромбоспондин-1 и кластерин обеспечивают увеличение инвазивного потенциала опухолевых клеток за счет повышения активности MMP-9 через сигнальный путь p38 MAPK [74].

Dovizio и соавт. продемонстрировали, что инкубация тромбоцитов с клетками колоректального рака линии HT29 приводит к увеличению в последних уровня мРНК ЦОГ-2 и что для синтеза белка ЦОГ-2 в опухолевых клетках необходима секреция тромбоцитами PDGF. ЦОГ-2-зависимый синтез простагландина E2 в клетках HT29 приводит к изменениям, связанным с ЭМП: снижение экспрессии белка p21 и увеличение циклина B1. Кроме того, авторы показали, что к увеличению экспрессии ЦОГ-2 клетками HT29 приводит непосредственное взаимодействие галектина-3 (белка, содержащего коллаген-подобный домен и экспрессируемого на поверхности клеток HT29) и гликопротеина VI (тромбоцитарного рецептора к коллагену) [67]. Полученные результаты позволили сделать предположение о потенциальной эффективности ингибиторов галектина-3 в предотвращении метастазирования колоректального рака [67].

Тромбоциты обеспечивают защиту опухолевых клеток от иммунной системы и выживание их в кровотоке

Выживание ЦОК в кровотоке имеет решающее значение для метастазирования [75]. Установлено, что тромбоциты, окружая ЦОК, способны их защитить от иммунной системы [76–78]. Известно, что на поверхности многих опухолевых клеток снижена

экспрессия главного комплекса гистосовместимости (МНС) I класса [79], что позволяет им избежать уничтожения цитотоксичными Т-лимфоцитами [78]. Placke и соавт. установили *in vitro*, что при коинкубации тромбоцитов с клетками различных опухолей происходит перенос молекул МНС I класса на поверхность опухолевых клеток [34]. Этот перенос был также подтвержден с помощью электронной микроскопии [78]. Таким образом, было установлено, что благодаря взаимодействию с тромбоцитами опухолевые клетки способны приобретать «псевдонормальный» фенотип, экспрессировать на своей поверхности МНС I класса и тем самым «ускользать» от распознавания NK-клетками.

Кроме того, установлена роль секретируемого тромбоцитами TGF-β в ингибировании противоопухолевой активности NK-клеток [80]. Корр и соавт. продемонстрировали, что инкубация NK-клеток с TGF-β, секретируемым тромбоцитами как после взаимодействия с опухолевыми клетками линии HCT116 (колоректальный рак), так и после стимуляции тромбоцитов «классическими» активаторами (коллагеном и тромбином), способствует снижению цитотоксичности NK-клеток, уменьшению продукции интерферона-альфа и мобилизации гранул [80]. Полученные результаты подтверждают способность тромбоцитов способствовать метастазированию опухолевых клеток путем подавления иммунного ответа.

Таким образом, данные, полученные *in vitro* и *in vivo*, свидетельствуют о том, что взаимодействие тромбоцитов с опухолевыми клетками играет важную роль в развитии и прогрессировании онкологических заболеваний. На сегодняшний день описаны различные молекулярные механизмы, обеспечивающие эти взаимодействия (рисунки 1), однако часть из них только предстоит выяснить.

Опухолевая РНК: диагностическое значение и существующие ограничения

Ранее было установлено, что тромбоциты способны поглощать опухолевую РНК и что, по крайней мере, часть тромбоцитарной РНК имеет опухолевую природу [20, 21, 23, 81–83]. В контексте диагностики онкологических заболеваний основной особенностью опухолевой РНК является то, что ее репертуар отражает экспрессию генов в живых клетках опухоли и их функциональную активность [84]. О том, что внеклеточная РНК может быть обнаружена в кровотоке, впервые сообщили Stroun и соавт. в 1978 г. [85], а первое предположение о возможности использовать циркулирующую опухолевую РНК в качестве маркера злокачественных заболеваний было высказано несколько лет спустя Wiczorek и соавт. [86].

Рисунок 1

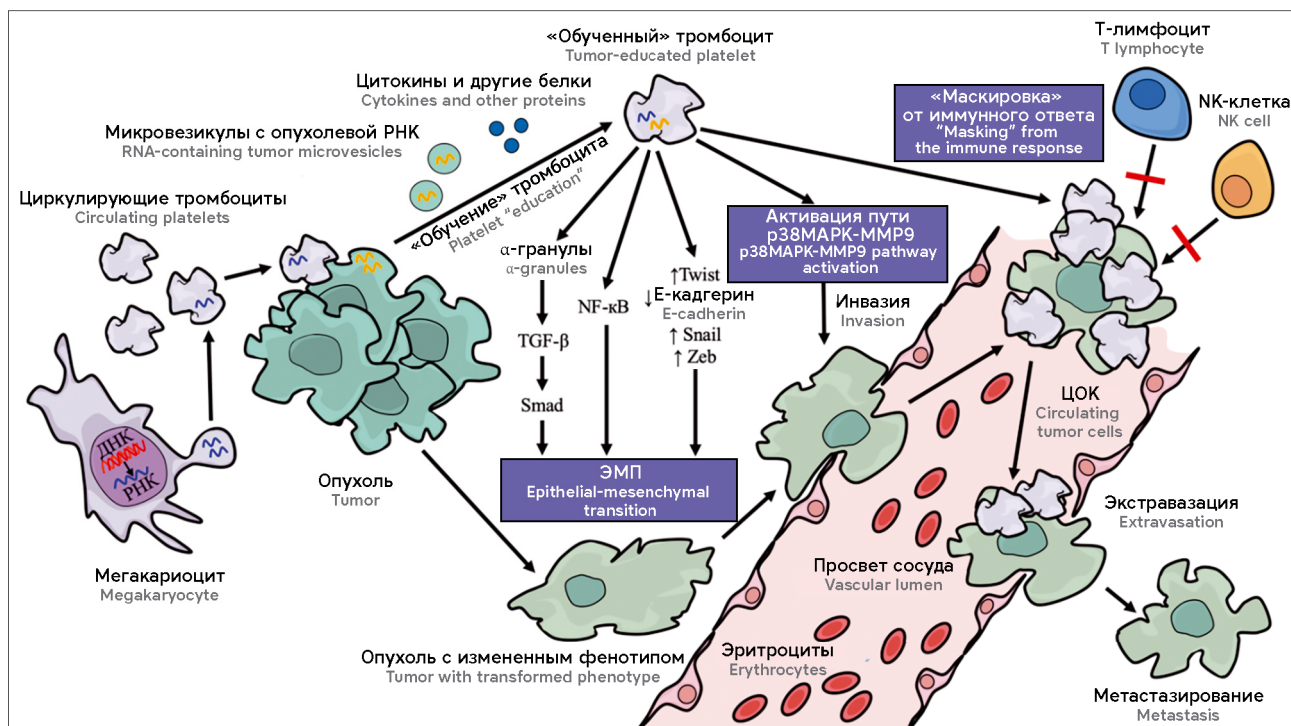
Роль тромбоцитов в пролиферации и метастазировании опухолей

Взаимодействие тромбоцитов с опухолевыми клетками обеспечивается с помощью различных механизмов. Поглощение тромбоцитами секретируемых опухолью молекул (в том числе РНК) приводит к их «обучению». «Обученные» тромбоциты способствуют ЭМП в опухолевых клетках и увеличению их инвазивного потенциала. После инвазии в кровеносный сосуд тромбоциты обеспечивают защиту ЦОК от элиминации клетками иммунной системы, обеспечивают их выживание в кровотоке и тем самым способствуют метастазированию

Figure 1

Role of platelets in tumor proliferation and metastasis

Interactions between platelets and cancer cells rely on various mechanisms. The absorption of tumor-secreted molecules (including RNA) by platelets leads to their "education". Tumor-educated platelets promote epithelial-mesenchymal transition in tumor cells and an increase in their invasiveness. After intravasation, platelets protect circulating tumor cells from being eliminated by immune cells, promote their survival in the bloodstream, and thus promote metastasis



На сегодняшний день в кровотоке обнаружены все известные классы РНК [87]. Наиболее важными классами циркулирующих опухолевых РНК являются мРНК, микроРНК и длинные некодирующие РНК (днкРНК) [8]. цРНК является сравнительно нестабильной молекулой: период ее полураспада в плазме крови составляет около 15 с [88]. Стабильность цРНК усиливается за счет ассоциации ее с белками плазмы [89], протеолипидными комплексами [86] и внеклеточными везикулами [90].

Установлено, что циркулирующая экзосомная (везикулярная) РНК может быть использована для определения мутационного статуса генов RAS-каскада *KRAS* и *BRAF* у пациентов с колоректальным раком [91], а выявление экзосомной мРНК EGFRvIII обладает потенциалом для диагностики EGFRvIII-позитивных глиобластом [92]. Также показано, что выявление в экзосомной РНК пациентов с раком предстательной железы одного из вариантов альтернативного сплайсинга андрогенных рецепторов AR-V7 с помощью цифровой капельной ПЦР ассоциировано с резистентностью к гормональной терапии [93].

Определение уровней экзосомных miR-196a и miR-1246 может быть использовано для ранней

диагностики рака поджелудочной железы [94]. Экспрессионный анализ микроРНК также может использоваться для диагностики рака легкого [95] и определения прогноза при этом заболевании [96].

днкРНК также представляют диагностический интерес. Так, было показано, что уровень экзосомной РНК LINC00152 значительно повышен у пациентов с раком желудка по сравнению со здоровыми донорами [97].

Наиболее важным ограничением для внедрения анализа циркулирующей опухолевой РНК в клиническую практику является ее чрезвычайно низкая стабильность в кровотоке [98]. Кроме того, на сегодняшний день нет общепринятого мнения относительно оптимального протокола выделения цРНК из крови [98]. Это не позволяет рассматривать анализ цРНК в качестве полноценного неинвазивного метода получения информации об экспрессии опухолевых генов и стимулирует ученых к поиску новых решений [8]. Одним из них стал анализ тромбоцитарной РНК.

Изменение тромбоцитарного транскриптома при онкологических заболеваниях

Прицельное изучение тромбоцитарной РНК у пациентов с онкологическими заболеваниями с

помощью современных молекулярно-генетических методов началось в 2010 г., когда Calverley и соавт. впервые продемонстрировали статистически значимые различия в профилях экспрессии тромбоцитарной РНК между группами здоровых доноров ($n = 7$) и пациентов с метастатическим раком легкого ($n = 5$). Было установлено, что между тромбоцитами здоровых доноров и пациентов с раком легкого существуют различия в экспрессии 200 генов, уровни мРНК 197 из которых снижены у последних [81].

В 2011 г. Nilsson и соавт. продемонстрировали, что тромбоциты, выделенные из крови пациентов с глиобластомой, содержат мРНК EGFRvIII [21]. Для своего исследования Nilsson и соавт. [21] выделили тромбоциты из цельной крови с помощью двукратного центрифугирования. мРНК EGFRvIII в тромбоцитах была обнаружена с чувствительностью 80% и специфичностью 96%. Также с помощью ДНК-микрочипов Nilsson и соавт. определили ряд генов (*BG*, *WFDC1*, *KREMEN1*, *FKBP5*, *C1QTNF5*, *TP53I3* и др. – всего 30), по различиям уровней тромбоцитарной мРНК которых удалось с высокой точностью разделить группы пациентов с глиобластомой ($n = 8$) и здоровых доноров ($n = 12$) [21].

Дальнейшие исследования Nilsson и соавт. подтвердили поглощение тромбоцитами мРНК опухолевых клеток. С помощью ПЦР с обратной транскрипцией ими было установлено, что в тромбоцитах пациентов с ALK-положительным немелкоклеточным раком легкого (НМКРЛ) обнаруживается мРНК химер-

ного онкогена *EML4-ALK* [82], кодирующего химерную тирозинкиназу, постоянно передающего сигналы через пути PI3K/ERK и RAS/MAPK, что нарушает нормальную дифференцировку и апоптоз клетки [99]. Этот результат является крайне актуальным, так как сегодня обнаружение транслокации *EML4-ALK* при НМКРЛ является принципиальным для назначения таргетной терапии рака легкого ингибитором тирозинкиназы ALK кризотинибом [100].

В 2015 г. Best и соавт. первыми провели анализ тромбоцитарного транскриптома с помощью секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS). Среди исследованных доноров 55 были здоровыми, а 228 имели ранее установленное онкологическое заболевание. При выделении тромбоцитов авторы наблюдали соотношение от 1 до 5 ядерных клеток на 10 млн тромбоцитов, что было признано ими допустимым. После синтеза, амплификации и создания библиотеки комплементарной ДНК было проведено секвенирование на платформе Hiseq® 2500 (Illumina). Основные этапы выделения и анализа тромбоцитарной РНК по протоколу, использованному в исследовании, проиллюстрированы на рисунке 2 [20].

После анализа результатов секвенирования транскриптома тромбоцитов 283 доноров Best и соавт. установили, что в общей сложности уровни 1453 из 5003 мРНК, доступных для анализа, были повышены и уровни 793 мРНК – снижены в тромбоцитах пациентов с онкологическими заболеваниями

Рисунок 2

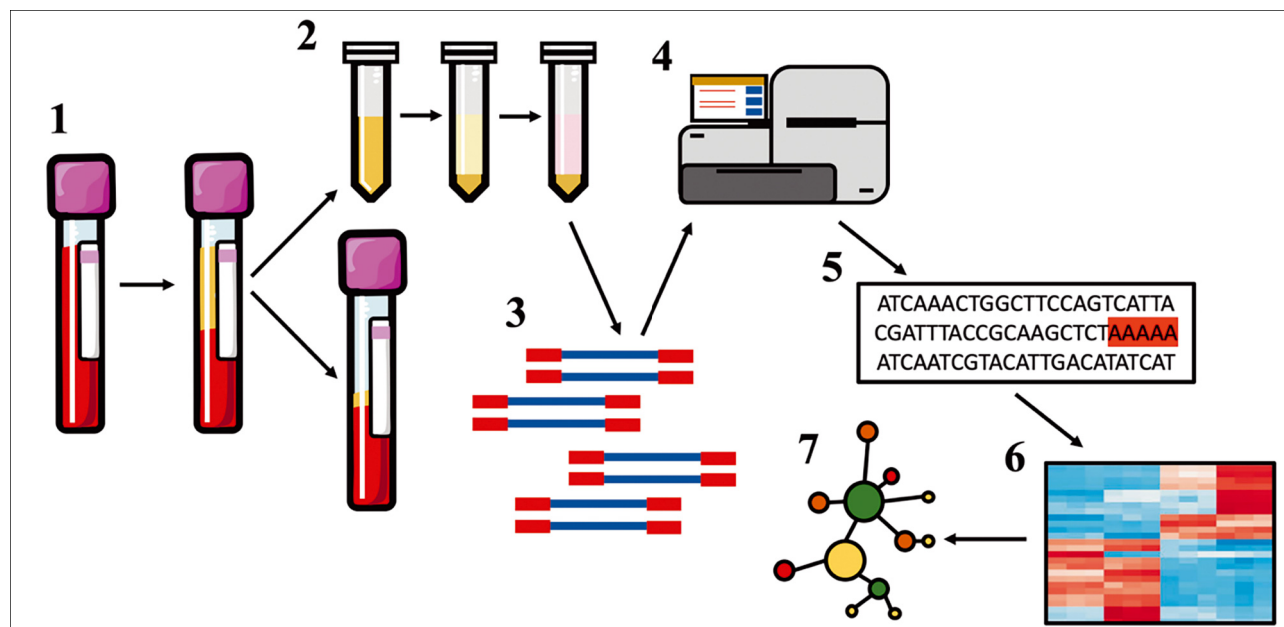
Основные этапы выделения и анализа тромбоцитарной РНК по протоколу Best и соавт. [20]

1 – взятие крови на EDTA, центрифугирование 20 мин при 120g; 2 – отбор плазмы, богатой тромбоцитами, центрифугирование 20 мин при 360g, отбор плазмы, бедной тромбоцитами, добавление к тромбоцитам среды RNeasy; 3 – синтез, амплификация и создание библиотеки комплементарной ДНК; 4 и 5 – секвенирование РНК на платформе Hiseq® 2500 (Illumina); 6 и 7 – анализ результатов секвенирования

Figure 2

The main stages of platelet RNA isolation and analysis according to the protocol by Best et al. [20]

1 – collecting blood in purple-cap EDTA tubes, centrifugation for 20 minutes at 120g; 2 – collecting platelet-rich plasma, centrifugation for 20 minutes at 360g, collecting platelet-poor plasma, adding RNeasy to platelets; 3 – cDNA synthesis and amplification, creation of a cDNA library; 4, 5 – RNA sequencing on the Hiseq® 2500 platform (Illumina); 6, 7 – sequencing data analysis



по сравнению с тромбоцитами здоровых доноров. Авторам удалось с минимальным перекрытием разделить группы здоровых доноров и пациентов. Анализ геномной онтологии (GO-анализ) показал, что в тромбоцитах пациентов с онкологическими заболеваниями были повышены уровни мРНК, кодирующих белки, вовлеченные в процессы везикулярного транспорта, активации тромбоцитов и связывания белков цитоскелета. В то же время было выявлено снижение уровней мРНК, кодирующих белки, вовлеченные в процессинг и сплайсинг РНК.

Создание алгоритма классификации, разработанного с использованием методов машинного обучения, позволило с точностью > 95% устанавливать наличие или отсутствие у пациента онкологического заболевания по результатам секвенирования 1072 тромбоцитарных мРНК. При этом конкретный тип опухоли удавалось определять с точностью > 70% [20].

В 2017 г. Best и соавт. провели еще одно исследование, посвященное прицельному изучению транскриптома тромбоцитов у пациентов с НМКРЛ. В него были включены 402 пациента с установленным ранее раком легкого и 377 здоровых доноров. Авторам удалось выделить панель генов ($n = 779$), экспрессия которых значительно отличается в тромбоцитах здоровых доноров и пациентов с НМКРЛ. Уровни мРНК одних генов (например, *CFL1*, *ACOT7* и *ARPC1B*) значительно повышены в тромбоцитах пациентов с раком легкого по сравнению со здоровыми донорами, в то время как уровни ряда других (например, *DDX5*, *RPS5* и *EEF1B2*), напротив, значительно снижены. Различия в уровнях тромбоцитарной РНК между донорами с раком легкого и без него не зависят от возраста, статуса курения, наличия воспалительных заболеваний, а также времени хранения крови после забора. Авторам удавалось устанавливать наличие НМКРЛ на поздних стадиях с точностью 88%, и на ранних – с точностью 81% [83].

Метод анализа тромбоцитарной мРНК показал свою эффективность и в качестве контроля противоопухолевой терапии [81]. В 2017 г. были опубликованы результаты клинического исследования, в котором сравнивалась эффективность абиратерона и доцетаксела в лечении резистентного к кастрации рака предстательной железы [23]. Всего в исследование были включены 50 пациентов, получивших в ходе него терапию доцетакселом ($n = 24$) или абиратероном ($n = 26$). Было установлено, что мРНК генов *KLK2*, *KLK3*, *FOLH1* и *NPY* не выявляется в тромбоцитах здоровых доноров, но при этом может быть обнаружена в тромбоцитах пациентов с раком предстательной железы с различной частотой встречаемости (более 37% для *KLK3*, более 32% для *KLK2*, более 25% для *FOLH1* и более 25% для *NPY*). Риск развития резистентности к терапии у пациентов

с обнаруженной в тромбоцитах мРНК *FOLH1* в 3,4 раза выше, чем у больных, в тромбоцитах которых она не обнаруживается. Выявление в тромбоцитах пациентов, получающих терапию абиратероном, мРНК *KLK2*, *KLK3* и *FOLH1* было связано с уменьшением общей выживаемости по сравнению с больными, в тромбоцитах которых мРНК этих генов не определяются. Было установлено, что у пациентов с одновременным обнаружением в тромбоцитах мРНК *KLK3*, *FOLH1* и *NPY* наблюдается увеличение в 4,2 раза риска неэффективности терапии абиратероном ($p < 0,01$). Это свидетельствует о больших предиктивных возможностях одновременного анализа панели из 3 генов для предсказания ответа опухоли на терапию [23].

В таблице приведены основные результаты исследований, посвященных изучению природы тромбоцитарной РНК, а также анализу транскриптома тромбоцитов при онкологических заболеваниях и определению диагностической ценности этого метода (по [10], с изменениями).

Стоит отметить, что существующие методы анализа тромбоцитарной РНК не лишены ограничений. Не до конца ясно, как именно происходит процесс переноса РНК из опухолевой клетки в тромбоцит [101, 102], что накладывает ограничения на однозначную интерпретацию результатов секвенирования тромбоцитарной РНК.

Также необходимо учитывать, что количество РНК в одной ядерной клетке в 10 000 раз превосходит количество РНК в одном тромбоците [103]. Таким образом, контаминация выделенных тромбоцитов ядерными клетками способна оказывать влияние на результаты секвенирования [10]. Наиболее точным методом отделения тромбоцитов от примеси ядерных клеток является использование магнитного сепаратора с частицами, конъюгированными с антителами к CD45 [81], это дорогая и трудоемкая методика.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ транскриптома тромбоцитов представляет собой перспективный метод диагностики онкологических заболеваний и мониторинга ответа опухоли на проводимое лечение. Возможно, в будущем этот метод также позволит проводить скрининг нескольких типов злокачественных заболеваний одновременно, что, неоспоримо, будет давать ему преимущества перед инвазивными методами диагностики.

Тем не менее перед внедрением этого метода в клиническую практику прежде всего необходимо проведение исследований, позволяющих точно установить механизмы взаимодействия между опухолевой клеткой и тромбоцитом и однозначно определить природу тромбоцитарной РНК. Также необходима

Таблица

Изменения транскриптома тромбоцитов у пациентов с онкологическими заболеваниями (по [10], с изменениями)

Table

Changes in platelet transcriptome in patients with different oncological diseases (according to [10], with changes)

Предмет изучения Object of study	Когорта Cohort	Размер когорты, n Cohort size, n	Основные результаты Main results	Ссылка Link	Год Year
Профиль экспрессии мРНК mRNA expression pattern	НМКРЛ NSCLC	5	В тромбоцитах пациентов с НМКРЛ снижена экспрессия мРНК 197 из 200 исследованных генов 197 of 200 studied RNA are downregulated in platelets from patients with NSCLC	[81]	2010
	Здоровые доноры Healthy controls	7			
мРНК EGFRvIII EGFRvIII mRNA	Глиобластома Glioblastoma	31	В тромбоцитах пациентов с глиобластомой обнаруживается мРНК EGFRvIII. Описан механизм поглощения тромбоцитами микровезикул опухолевых клеток, содержащих РНК Platelets from patients with glioblastoma sequester tumor-derived EGFRvIII mRNA. The mechanism of absorption of RNA-containing tumor microvesicles by platelets was described	[21]	2011
	Здоровые доноры Healthy controls	12			
Профиль экспрессии мРНК mRNA expression pattern	НМКРЛ, колоректальный рак, рак молочной железы, глиобластома, рак поджелудочной железы, рак печени NSCLC, colorectal cancer, breast cancer, glioblastoma, pancreatic cancer, liver cancer	60, 41, 39, 35, 14	Алгоритм классификации, разработанный с использованием метода опорных векторов, позволяет устанавливать наличие у пациента 1 из 6 онкологических заболеваний или его отсутствие The classification algorithm developed using the support vector machine allows to establish the presence or absence of one of the 6 studied oncological diseases in a patient	[20]	2015
	Здоровые доноры Healthy controls	55			
мРНК мутантных KRAS, EGFR KRAS, EGFR mutant mRNA	Колоректальный рак, НМКРЛ, рак поджелудочной железы Colorectal cancer, NSCLC, pancreatic cancer	88, 67 (KRAS), 48 (EGFR), 49	В тромбоцитах пациентов с различными заболеваниями обнаруживаются мРНК специфических онкомаркеров In platelets from patients with various diseases specific tumor-associated mRNAs are detected		
мРНК EML4-ALK EML4-ALK mRNA	НМКРЛ NSCLC	77	В тромбоцитах пациентов с НМКРЛ обнаруживается мРНК EML4-ALK EML4-ALK mRNA is detected in platelets of patients with NSCLC	[82]	2016
Профиль экспрессии мРНК mRNA expression pattern	НМКРЛ NSCLC	402	С помощью алгоритмов машинного обучения по результатам секвенирования транскриптома тромбоцитов удалось устанавливать наличие НМКРЛ на поздних стадиях с точностью 88% и на ранних – с точностью 81% Using machine learning algorithms and based on the results of platelet transcriptome sequencing it was possible to determine the presence of NSCLC in the advanced stages with an accuracy of 88%, in early stages – 81%	[83]	2017
	Доноры (с возможным наличием воспалительных заболеваний) Donors (with possible presence of inflammatory diseases)	377			
мРНК KLK2, KLK3, FOLH1 и NPY KLK2, KLK3, FOLH1 and NPY mRNA	Резистентный к кастрации рак предстательной железы Castration-resistant prostate cancer	50	В тромбоцитах пациентов с раком простаты обнаруживаются мРНК KLK2, KLK3, FOLH1 и NPY, которые отсутствуют в тромбоцитах здоровых доноров. Обнаружение мРНК KLK2, KLK3 и FOLH1 может использоваться в качестве предиктора ответа на терапию абиратероном In the platelets from patients with prostate cancer, KLK2, KLK3, FOLH1 and NPY mRNAs are found. These mRNAs are absent in the platelets from healthy donors. Detection of KLK2, KLK3, and FOLH1 mRNAs can be used as a predictor of response to abiraterone therapy	[23]	2017
	Здоровые доноры Healthy controls	15			

Примечание. KLK2 – калликреин-родственная пептидаза 2; KLK3 – калликреин-родственная пептидаза 3; FOLH1 – фоллат-гидролаза 1; NPY – нейропептид Y.
Note. NSCLC – non-small cell lung cancer; EGFR – epidermal growth factor receptor; EGFRvIII – EGFR variant III; KRAS – KRAS gene; EML4-ALK – echinoderm microtubule associated protein like 4 – anaplastic lymphoma kinase fusion gene; KLK2 – kallikrein related peptidase 2; KLK3 – kallikrein related peptidase 3; FOLH1 – folate hydrolase 1; NPY – neuropeptide Y.

разработка протоколов быстрого и малозатратного выделения тромбоцитов, позволяющих однозначно утверждать, что вся используемая для секвенирования РНК имеет тромбоцитарную природу. На настоящий момент эти вопросы остаются нерешенными, и это накладывает существенные ограничения на применение секвенирования тромбоцитарного транскриптома в клинической практике.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы выражают благодарность члену-корреспонденту РАН Пантелеву Михаилу Александровичу за поддержку и вдохновение при выполнении данной работы.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований №17-00-00138.

КОНФИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Tesakov I.P. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9366-3449>

Martyanov A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0211-6325>

Drui A.E. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1308-8622>

Sveshnikova A.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4720-7319>

Литература

- Best M.G., Wesseling P., Wurdinger T. Tumor-educated platelets as a noninvasive biomarker source for cancer detection and progression monitoring. *Cancer Res* 2018; 78 (13): 3407–12.
- Abel E.J., Carrasco A., Culp S.H., Matin S.F., Tamboli P., Tannir N.M., et al. Limitations of preoperative biopsy in patients with metastatic renal cell carcinoma: Comparison to surgical pathology in 405 cases. *BJU Int* 2012; 110 (11): 1742–6.
- Dhaun N., Bellamy C.O., Cattran D.C., Kluth D.C. Utility of renal biopsy in the clinical management of renal disease. *Kidney Int* 2014; 85 (5): 1039–48.
- Overman M.J., Modak J., Kopetz S., Murthy R., Yao J.C., Hicks M.E., et al. Use of research biopsies in clinical trials: Are risks and benefits adequately discussed? *J Clin Oncol* 2013; 31 (1): 17–22.
- Baca S.C., Prandi D., Lawrence M.S., Mosquera J.M., Romanell A., Drier Y., et al. Punctuated evolution of prostate cancer genomes. *Cell* 2013; 153 (3): 666–77.
- Yates L.R., Gerstung M., Knappskog S., Desmedt C. Europe PMC Funders Group Subclonal diversification of primary breast cancer revealed by multiregion sequencing. *Nat Med* 2016; 21 (7): 751–9.
- Turajlic S., Sottoriva A., Graham T., Swanton C. Resolving genetic heterogeneity in cancer. *Nat Rev Genet* 2019; 20 (7): 404–16.
- De Rubis G., Rajeev Krishnan S., Beba-wy M. Liquid Biopsies in Cancer Diagnosis, Monitoring, and Prognosis. *Trends Pharmacol Sci* 2019; 40 (3): 172–86.
- Kanikarla-Marie P., Lam M., Menter D.G., Kopetz S. Platelets, circulating tumor cells, and the circulome. *Cancer Metastasis Rev* 2017; 36 (2): 235–48.
- Best M.G., Vancura A., Wurdinger T. Platelet RNA as a circulating biomarker trove for cancer diagnostics. *J Thromb Haemost* 2017; 15 (7): 1295–306.
- Leslie M. Beyond clotting: The powers of platelets. *Science* 2010; 328 (5978): 562–4.
- Warshaw A.L., Laster L., Shulman N.R. The stimulation by thrombin of glucose oxidation in human platelets. *J Clin Invest* 1966; 45 (12): 1923–34.
- Booyse F.M., Rafelson M.E. Stable messenger RNA in the synthesis of contractile protein in human platelets. *Biochim Biophys Acta* 1967; 145 (1): 188–90.
- Booyse F.M., Rafelson M.E. Studies on human platelets. I. Synthesis of platelet protein in a cell-free system. *Biochim Biophys Acta* 1968; 166 (3): 689–97.
- Newman P.J., Gorski J., White G.C., Gidwitz S., Cretney C.J., Aster R.H. Enzymatic amplification of platelet-specific messenger RNA using the polymerase chain reaction. *J Clin Invest* 1988; 82 (2): 739–43.
- Denis M.M., Tolley N.D., Bunting M., Schwertz H., Lindemann S., Yost C.C., et al. Signal-Dependent Pre-mRNA Splicing in Anucleate Platelets Melvin. *Cell* 2005; 122 (3): 379–91.
- Nassa G., Giurato G., Cimmino G., Rizzo F., Ravo M., Salvati A., et al. Splicing of platelet resident pre-mRNAs upon activation by physiological stimuli results in functionally relevant proteome modifications. *Sci Rep* 2018; 8 (1): 1–12.
- Bahou W.F., Gnatenko D.V. Platelet transcriptome: The application of microarray analysis to platelets. *Semin Thromb Hemost* 2004; 30 (4): 473–84.
- In 'T Veld S.G.J.G., Wurdinger T. Tumor-educated platelets. *Blood* 2019; 133 (22): 2359–64.
- Best M.G., Sol N., Kooi I., Tannous J., Westerman B.A., Rustenburg F., et al. RNA-Seq of Tumor-Educated Platelets Enables Blood-Based Pan-Cancer, Multiclass, and Molecular Pathway Cancer Diagnostics. *Cancer Cell* 2015; 28 (5): 666–76.
- Nilsson R.J.A., Balaj L., Hulleman E., Van Rijn S., Pegtel D.M., Walraven M., et al. Blood platelets contain tumor-derived RNA biomarkers. *Blood* 2011; 118 (13): 3680–3.
- Kuznetsov H.S., Marsh T., Markens B.A., Castaño Z., Greene-Colozzi A., Hay S.A., et al. Identification of luminal breast cancers that establish a tumor-supportive macroenvironment defined by proangiogenic platelets and bone marrow-derived cells. *Cancer Discov* 2012; 2 (12): 1150–65.
- Tjon-Kon-Fat L.A., Lundholm M., Schröder M., Wurdinger T., Thellenberg-Karlsson C., Widmark A., et al. Platelets harbor prostate cancer biomarkers and the ability to predict therapeutic response to abiraterone in castration resistant patients. *Prostate* 2017; 78 (1): 48–53.
- Wang S., Li Z., Xu R. Human cancer and platelet interaction, a potential therapeutic target. *Int J Mol Sci* 2018; 19 (4): 1–15.
- Tjon-Kon-Fat L.A., Sol N., Wurdinger T., Nilsson R.J.A. Platelet RNA in Cancer Diagnostics. *Semin Thromb Hemost* 2018; 44 (2): 135–41.
- McAllister S.S., Weinberg R.A. The tumour-induced systemic environment as a critical regulator of cancer progression and metastasis. *Nat Cell Biol* 2014; 16 (8): 717–27.
- Lood C., Amisten S., Gullstrand B., Jönsen A., Allhorn M., Truedsson L., et al. Platelet transcriptional profile and protein expression in patients with systemic lupus erythematosus: Up-regulation of the type I interferon system is strongly associated with vascular disease. *Blood* 2010; 116 (11): 1951–7.
- Boilard E., Nigrovic P.A., Larabee K., Watts G.F.M., Coblyn J.S., Weinblatt M.E., et al. Platelets amplify inflammation in arthritis via collagen-dependent microparticle production. *Science* 2010; 327 (5965): 580–3.
- Menter D.G., Hatfield J.S., Harkins C., Sloane B.F., Taylor J.D., Crissman J.C., et al. Tumor cell-platelet interactions *in vitro* and their relationship to *in vivo* arrest of hematogenously circulating tumor cells. *Clin Exp Metastasis* 1987; 5 (1): 65–78.
- Egan K., Crowley D., Smyth P., O'Toole S., Spillane C., Martin C., et al. Platelet adhesion and degranulation induce pro-survival and pro-angiogenic signalling in ovarian cancer cells. *PLoS ONE* 2011; 6 (10).
- Labelle M., Begum S., Hynes R.O. Direct Signaling between Platelets and Cancer Cells Induces an Epithelial-Mesenchymal-Like Transition and Promotes Metastasis. *Cancer Cell* 2011; 20 (5): 576–90.
- Labelle M., Hynes R.O. The initial hours of metastasis: The importance of cooperative host-tumor cell interactions during hematogenous dissemination. *Cancer Discov* 2012; 2 (12): 1091–9.
- Kuznetsov H.S., Marsh T., Markens B.A., Castaño Z., Greene-Colozzi A., Hay S.A., et al. Identification of Luminal Breast Cancers That Establish a Tumor-Supportive Macroenvironment Defined by Proangiogenic Platelets and Bone Marrow-Derived Cells. *Cancer Discov* 2012; 2 (12): 1150–65.
- Placke T., Örgel M., Schaller M., Jung G., Rammensee H.G., Kopp H.G., et al. Platelet-derived MHC class I confers a pseudonormal phenotype to cancer cells that subverts the antitumor reactivity of natural killer immune cells. *Cancer Res* 2012; 72 (2): 440–8.
- Joyce J.A., Pollard J.W. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer* 2009; 9 (4): 239–52.
- Franco A.T., Corken A., Ware J. Review Article Platelets at the interface of thrombosis, inflammation, and cancer. *Blood* 2016; 126 (5): 582–9.
- Plantureux L., Mège D., Crescence L., Dignat-George F., Dubois C., Panicot-Dubois L. Impacts of cancer on platelet production, activation and education and mechanisms of cancer-associated thrombosis. *Cancers (Basel)* 2018; 10 (11): 1–23.
- Boukerche H., Berthier-Vergnes O., Penin F., Tabone E., Lizard G., Bailly M., et al. Human melanoma cell lines dif-

- fer in their capacity to release ADP and aggregate platelets. *Br J Haematol* 1994; 87 (4): 763–72.
39. Heinmöller E., Weinel R.J., Heidtmann H.H., Salge U., Seitz R., Schmitz I., et al. Studies on tumor-cell-induced platelet aggregation in human lung cancer lines. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996; 122 (12): 735–44.
 40. Sakai H., Suzuki T., Takahashi Y., Ukai M., Tsuchi K., Fujii T., et al. Upregulation of thromboxane synthase in human colorectal carcinoma and the cancer cell proliferation by thromboxane A₂. *FEBS Lett* 2006; 580 (14): 3368–74.
 41. Cathcart M.C., Gately K., Cummins R., Kay E., O'Byrne K.J., Pidgeon G.P. Examination of thromboxane synthase as a prognostic factor and therapeutic target in non-small cell lung cancer. *Mol Cancer* 2011; 10: 1–14.
 42. Kajita S., Ruebel K.H., Casey M.B., Nakamura N., Lloyd R.V. Role of COX-2, thromboxane A₂ synthase, and prostaglandin I₂ synthase in papillary thyroid carcinoma growth. *Mod Pathol* 2005; 18 (2): 221–7.
 43. De Leval X., Benoit V., Delarge J., Julémont F., Masereel B., Pirotte B., et al. Pharmacological evaluation of the novel thromboxane modulator BM-567 (II/II). Effects of BM-567 on osteogenic sarcoma-cell-induced platelet aggregation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2003; 68 (1): 55–9.
 44. Ito Y., Katagiri H., Ishii K., Kakita A., Hayashi I., Majima M. Effects of selective cyclooxygenase inhibitors on ischemia/reperfusion-induced hepatic microcirculatory dysfunction in mice. *Eur Surg Res* 2003; 35 (5): 408–16.
 45. Nie D., Lamberti M., Zacharek A., Li L., Szekeres K., Tang K., et al. Thromboxane A₂ regulation of endothelial cell migration, angiogenesis, and tumor metastasis. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 267 (1): 245–51.
 46. Carlsson K., Freskgård P.O., Persson E., Carlsson U., Svensson M. Probing the interface between factor Xa and tissue factor in the quaternary complex tissue factor-factor VIIa-factor Xa-tissue factor pathway inhibitor. *European J Biochem* 2003; 270 (12): 2576–82.
 47. Коваленко Т.А., Пантелеев М.А., Свешникова А.Н. Роль тканевого фактора в метастазировании, неоангиогенезе и гемостазе при онкологических заболеваниях. *Онкогематология* 2019; 14 (2).
 48. MacKman N., Taubman M. Tissue factor: Past, present, and future. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29 (12): 1986–8.
 49. Ruf W., Yokota N., Schaffner F. Tissue factor in cancer progression and angiogenesis. *Thromb Res* 2010; 125 Suppl: S36–8.
 50. Liu Y., Jiang P., Capkova K., Xue D., Ye L., Sinha S.C., et al. Tissue factor-activated coagulation cascade in the tumor microenvironment is critical for tumor progression and an effective target for therapy. *Cancer Res* 2011; 71 (20): 6492–502.
 51. Calvete J.J. On the Structure and Function of Platelet Integrin $\alpha\text{IIb}\beta_3$, the Fibrinogen Receptor. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995; 208 (4): 346–60.
 52. Karpotkin S., Pearlstein E., Ambrogio C., Collier B.S. Role of adhesive proteins in platelet tumor interaction *in vitro* and metastasis formation *in vivo*. *J Clin Invest* 1988; 81 (4): 1012–9.
 53. Zimmer G., Oeffner F., Von Messling V., Tschernig T., Gröne H.J., Klenk H.D., et al. Cloning and characterization of gp36, a human mucin-type glycoprotein preferentially expressed in vascular endothelium. *Biochem J* 1999; 341 (2): 277–84.
 54. Astarita J.L., Acton S.E., Turley S.J. Podoplanin: Emerging functions in development, the immune system, and cancer. *Front Immunol* 2012; 3(SEP): 1–12.
 55. Schacht V., Dadras S.S., Johnson L.A., Jackson D.G., Hong Y.K., Detmar M. Up-regulation of the lymphatic marker podoplanin, a mucin-type transmembrane glycoprotein, in human squamous cell carcinomas and germ cell tumors. *Am J Pathol* 2005; 166 (3): 913–21.
 56. Kato Y., Sasagawa I., Kaneko M., Osawa M., Fujita N., Tsuruo T. Aggrus: A diagnostic marker that distinguishes seminoma from embryonal carcinoma in testicular germ cell tumors. *Oncogene* 2004; 23 (52): 8552–6.
 57. Mishima K., Kato Y., Kaneko M.K., Nakazawa Y., Kunita A., Fujita N., et al. Podoplanin expression in primary central nervous system germ cell tumors: A useful histological marker for the diagnosis of germinoma. *Acta Neuropathol* 2006; 111 (6): 563–8.
 58. Suzuki-Inoue K., Inoue O., Ozaki Y. Novel platelet activation receptor CLEC-2: From discovery to prospects. *J Thromb Haemost* 2011; 9 (1 S): 44–55.
 59. Badolia R., Inamdar V., Manne B.K., Dangelmaier C., Eble J.A., Kunapuli S.P. Gq pathway regulates proximal C-type lectin-like receptor-2 (CLEC-2) signaling in platelets. *J Biol Chem* 2017; 292 (35): 14516–31.
 60. Martyanov A.A., Kaneva V.N., Panteliev M.A., Sveshnikova A.N. Physiological and pathophysiological aspects of blood platelet activation through CLEC-2 receptor. *Oncohematology* 2018; 13 (3): 83–90.
 61. Takagi S., Sato S., Oh-hara T., Takami M., Koike S., Mishima Y., et al. Platelets Promote Tumor Growth and Metastasis via Direct Interaction between Aggrus/Podoplanin and CLEC-2. *PLoS ONE* 2013; 8 (8): 1–11.
 62. Bellingham S.A., Guo B.B., Coleman B.M., Hill A.F. Exosomes: Vehicles for the transfer of toxic proteins associated with neurodegenerative diseases? *Front Physiol* 2012; 3: 124.
 63. Skog J., Wurdinger T., van Rijn S., Meijer D.H., Gainche L., Sena-Esteves M., et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol* 2008; 10 (12): 1470–6.
 64. Rutkowska A., Stoczyńska-Fidelus E., Janik K., Włodarczyk A., Rieseke P. EGFRvIII: An Oncogene with Ambiguous Role. *J Oncol* 2019; 2019: 1092587.
 65. Guarino M. Epithelial-mesenchymal transition and tumour invasion. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39 (12): 2153–60.
 66. Guillem-Llobat P., Dovizio M., Bruno A., Ricciotti E., Cufino V., Sacco A., et al. Aspirin prevents colorectal cancer metastasis in mice by splitting the crosstalk between platelets and tumor cells. *Oncotarget* 2016; 7 (22): 32462–77.
 67. Dovizio M., Maier T.J., Alberti S., Di Francesco L., Marcantoni E., Munch G., et al. Pharmacological inhibition of platelet-tumor cell cross-talk prevents platelet-induced overexpression of cyclooxygenase-2 in HT29 human colon carcinoma cells. *Mol Pharmacol* 2013; 84 (1): 25–40.
 68. Assoian R.K., Sporn M.B. Type B Transforming Growth Factor in Human Platelets. *J Cell Biol* 1986; 102: 1217–23.
 69. Cho M.S., Bottsford-Miller J., Vasquez H.G., Stone R., Zand B., Kroll M.H., et al. Platelets increase the proliferation of ovarian cancer cells. *Blood* 2012; 120 (24): 4869–72.
 70. Zhang Y., Unnithan R.V.M., Hamidi A., Caja L., Saupe F., Moustakas A., et al. TANK-binding kinase 1 is a mediator of platelet-induced EMT in mammary carcinoma cells. *FASEB J* 2019; 33 (7): 7822–32.
 71. Helgason E., Phung Q.T., Dueber E.C. Recent insights into the complexity of Tank-binding kinase 1 signaling networks: The emerging role of cellular localization in the activation and substrate specificity of TBK1. *FEBS Lett* 2013; 587 (8): 1230–7.
 72. Ou Y.H., Torres M., Ram R., Formstecher E., Roland C., Cheng T., et al. TBK1 Directly Engages Akt/PKB Survival Signaling to Support Oncogenic Transformation. *Mol Cell* 2011; 41 (4): 458–70.
 73. Barbie D.A., Tamayo P., Boehm J.S., Kim S.Y., Moody S.E., Dunn I.F., et al. Systematic RNA interference reveals that oncogenic KRAS-driven cancers require TBK1. *Nature* 2009; 462 (7269): 108–12.
 74. Radziwon-Balicka A., Santos-Martinez M.J., Corbalan J.J., O'Sullivan S., Treumann A., Gilmer J.F., et al. Mechanisms of platelet-stimulated colon cancer invasion: Role of clusterin and

- thrombospondin 1 in regulation of the P38MAPK-MMP-9 pathway. *Carcinogenesis* 2014; 35 (2): 324–32.
75. Kitamura T., Qian B.Z., Pollard J.W. Immune cell promotion of metastasis. *Nat Rev Immunol* 2015; 15 (2): 73–86.
 76. Gay L.J., Felding-Habermann B. Contribution of platelets to tumour metastasis. *Nat Rev Cancer* 2011; 11 (2): 123–34.
 77. Gruber I.V., Landenberger N., Staebler A., Hahn M., Wallwiener D., Fehm T. Relationship between circulating tumor cells and peripheral T-cells in patients with primary breast cancer. *Anticancer Res* 2013; 33 (5): 2233–8.
 78. Caligiuri M.A. Human natural killer cells. *Blood* 2008; 112 (3): 461–9.
 79. Zitvogel L., Tesniere A., Kroemer G. Cancer despite immunosurveillance: Immunoselection and immunosubversion. *Nat Rev Immunol* 2006; 6 (10): 715–27.
 80. Kopp H.G., Placke T., Salih H.R. Platelet-derived transforming growth factor- β down-regulates NKG2D thereby inhibiting natural killer cell antitumor reactivity. *Cancer Res* 2009; 69 (19): 7775–83.
 81. Calverley D.C., Phang T.L., Choudhury Q.G., Gao B., Oton A.B., Weyant M.J., et al. Significant downregulation of platelet gene expression in metastatic lung cancer. *Clin Transl Sci* 2010; 3 (5): 227–32.
 82. Nilsson R.J.A., Karachaliou N., Berenguer J., Gimenez-Capitan A., Schellen P., Teixeira C., et al. Rearranged EML4-ALK fusion transcripts sequester in circulating blood platelets and enable blood-based crizotinib response monitoring in non-small-cell lung cancer. *Oncotarget* 2016; 7 (1): 1066–75.
 83. Best M.G., Sol N., In 't Veld S.G.J.G., Vancura A., Muller M., Niemeijer A.L.N., et al. Swarm Intelligence-Enhanced Detection of Non-Small-Cell Lung Cancer Using Tumor-Educated Platelets. *Cancer Cell* 2017; 32 (2): 238–252.e9.
 84. Jahr S., Hentze H., Englisch S., Hardt D., Fackelmayer F.O., Hesch R.D., et al. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: Quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells. *Cancer Res* 2001; 61 (4): 1659–65.
 85. Stroun M., Anker P., Belianski M., Henri J., Lederrey C., Ojha M., et al. Presence of RNA in the Nucleoprotein Complex Spontaneously Released by Human Lymphocytes and Frog Auricles in Culture. *Cancer Res* 1978; 38 (10): 3546–54.
 86. Wieczorek A.J., Sitaramam V., Machleidt W., Rhyner K., Perruchoud A.P., Block L.H. Diagnostic and Prognostic Value of RNA-Proteolipid in Sera of Patients with Malignant Disorders following Therapy: First Clinical Evaluation of a Novel Tumor Marker. *Cancer Res* 1987; 47 (23): 6407–12.
 87. Zaporozhchenko I.A., Ponomaryova A.A., Rykova E.Y., Laktionov P.P. The potential of circulating cell-free RNA as a cancer biomarker: challenges and opportunities. *Exp Rev Mol Diagnost* 2018; 18 (2): 133–45.
 88. Tsui N.B.Y., Ng E.K.O., Lo Y.M.D. Stability of endogenous and added RNA in blood specimens, serum, and plasma. *Clin Chem* 2002; 48 (10): 1647–53.
 89. Arroyo J.D., Chevillet J.R., Kroh E.M., Ruf I.K., Pritchard C.C., Gibson D.F., et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108 (12): 5003–8.
 90. Fleischhacker M., Schmidt B. Circulating nucleic acids (CNAs) and cancer-A survey. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1775 (1): 181–232.
 91. Hao Y.X., Li Y.M., Ye M., Guo Y.Y., Li Q.W., Peng X.M., et al. KRAS and BRAF mutations in serum exosomes from patients with colorectal cancer in a Chinese population. *Oncol Lett* 2017; 13 (5): 3608–16.
 92. Manda S.V., Kataria Y., Tatireddy B.R., Ramakrishnan B., Ratnam B.G., Lath R., et al. Exosomes as a biomarker platform for detecting epidermal growth factor receptor-positive high-grade gliomas. *J Neurosurg* 2018; 128 (4): 1091–101.
 93. Del Re M., Biasco E., Crucitta S., Derosa L., Rofi E., Orlandini C., et al. The Detection of Androgen Receptor Splice Variant 7 in Plasma-derived Exosomal RNA Strongly Predicts Resistance to Hormonal Therapy in Metastatic Prostate Cancer Patients. *Eur Urol* 2017; 71 (4): 680–7.
 94. Xu Y.F., Hannafon B.N., Zhao Y.D., Postier R.G., Ding W.Q. Plasma exosome miR-196a and miR-1246 are potential indicators of localized pancreatic cancer. *Oncotarget* 2017; 8 (44): 77028–40.
 95. Jin X., Chen Y., Chen H., Fei S., Chen D., Cai X., et al. Evaluation of tumor-derived exosomal miRNA as potential diagnostic biomarkers for early-stage non-small cell lung cancer using next-generation sequencing. *Clin Cancer Res* 2017; 23 (17): 5311–9.
 96. Liu Q., Yu Z., Yuan S., Xie W., Li C., Hu Z., et al. Circulating exosomal microRNAs as prognostic biomarkers for non-small-cell lung cancer. *Oncotarget* 2017; 8 (8): 13048–58.
 97. Li Q., Shao Y., Zhang X., Zheng T., Miao M., Qin L., et al. Plasma long non-coding RNA protected by exosomes as a potential stable biomarker for gastric cancer. *Tumor Biol* 2015; 36 (3): 2007–12.
 98. Sourvinou I.S., Markou A., Lianidou E.S. Quantification of circulating miRNAs in plasma: Effect of preanalytical and analytical parameters on their isolation and stability. *J Mol Diagnost* 2013; 15 (6): 827–34.
 99. Sabir S.R., Yeoh S., Jackson G., Bayliss R. EML4-ALK variants: Biological and molecular properties, and the implications for patients. *Cancers* 2017; 9 (9).
 100. Christopoulos P., Kirchner M., Endris V., Stenzinger A., Thomas M. EML4-ALK V3, treatment resistance, and survival: Refining the diagnosis of ALK+ NSCLC. *J Thorac Dis* 2018; 10 (9): S1989–91.
 101. Dovizio M., Bruno A., Contursi A., Grande R., Patrignani P. Platelets and extracellular vesicles in cancer: diagnostic and therapeutic implications. *Cancer Metastasis Rev* 2018; 37 (2–3): 455–67.
 102. Liu L., Lin F., Ma X., Chen Z., Yu J. Tumor-educated platelet as liquid biopsy in lung cancer patients. *Crit Rev Oncol Hematol* 2020; 146: 102863.
 103. Sol N., Wurdinger T. Platelet RNA signatures for the detection of cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2017; 36 (2): 263–72.

© 2021 ФГБУ «НИИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 20.02.2021
Принята к печати 15.03.2021

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-218-221

Вспомогательные репродуктивные технологии и параметры здоровья детей

Ю.Г. Самойлова¹, М.В. Матвеева¹, И.А. Петров¹, Д.А. Кудлай^{2,3}, М.С. Давыдова¹,
К.Р. Раткина¹, Е.В. Мицеля¹, Т.В. Сиволобова¹, Ж.Ф. Гайфулина¹

¹ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск

²ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

³ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»
Минздрава России (Сеченовский Университет)

Контактная информация:

Матвеева Мария Владимировна,
д-р мед. наук, доцент кафедры детских
болезней ФГБОУ ВО СибГМУ
Минздрава России
Адрес: 634050, Томск,
Московский тракт, 4
E-mail: matveeva.mariia@yandex.ru

В обзоре представлена характеристика состояния здоровья детей, зачатых с помощью вспомогательных репродуктивных технологий, указаны возможные причины и факторы риска развития патологии.

Ключевые слова: вспомогательные репродуктивные технологии, экстракорпоральное оплодотворение, стимуляция овуляции, физическое развитие ребенка, лечение бесплодия

Самойлова Ю.Г. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (1): 218–221. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-218-221

Assisted reproductive technologies and children's health parameters

Yu.G. Samoilova¹, M.V. Matveeva¹, I.A. Petrov¹, D.A. Kudlay^{2,3}, M.S. Davydova¹, K.R. Ratkina¹, E.V. Mitselya¹,
T.V. Sivolobova¹, Zh.F. Gaifulina¹

¹Siberian State Medical University of Ministry of Health of the Russian Federation, Tomsk

²Federal State Budgetary Institution "Institute of Immunology" of Federal Medical and Biological Agency of Russia, Moscow

³Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow

The review presents a description of the health status of children conceived using assisted reproductive technologies, identifies possible causes and risk factors for the development of pathology.

Key words: assisted reproductive technologies, in vitro fertilization, ovulation stimulation, physical development of the child, fertility treatment

Samoilova Yu.G., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (1): 218–221.
DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-218-221

Correspondence:

Matveeva Maria V.,
Dr Med. Sci., assistant professor
of the department of childhood diseases,
Siberian State Medical University
of Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 4 Moskovsky trakt,
Tomsk 634050, Russia
E-mail: matveeva.mariia@yandex.ru

Бесплодный брак является одной из актуальных медико-социальных и демографических проблем настоящего времени, в связи с этим лечением бесплодия занимаются ведущие специалисты со всего мира [1, 2]. Глобальный прогресс, увеличивающийся жизненный темп, нервное перенапряжение и многие другие факторы снижают резистентность организма человека. В результате увеличивается рост соматической патологии, в том числе и эндокринных нарушений, повышается процент заболеваемости инфекциями, передаваемыми половым путем, увеличивается количество аборт — эти и многие другие предикторы влияют на репродуктивную функцию организма [3]. С момента появления на свет 25 июля 1978 г. Луизы Браун, которая стала первым ребенком, зачатым с помощью вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), прошло более 40 лет [4, 5]. За прошедший период возможности ВРТ «шагнули» далеко вперед, появились новые методы и процедуры, которыми уже воспользовались более 5 млн пар во всем мире. Однако имеется большое количество противоречивых данных о влиянии процедур ВРТ на состояние здоровья детей [6, 7].

К основным факторам развития патологии ребенка при применении ВРТ относят нарушение фертильности родителей, использование медицинских технологий для стимуляции овуляции, манипуляции при проведении процедур ВРТ, а также многоплодную беременность, которая часто наблюдается в ходе применения данных технологий [8–11].

Традиционно показателями успешности использования процедур ВРТ являются процент наступивших беременностей и живорожденность. К неблагоприятным перинатальным исходам ВРТ, как правило, относят смертность до или при рождении, ранний гестационный возраст и низкий вес ребенка при рождении [12]. По данным Российской ассоциации репродукции человека, за 2017 г. в России было проведено 139 779 циклов ВРТ (+ 13,5% по сравнению с 2016 г.), из них число рожденных детей составило 33 748 [13].

К наиболее частым проблемам у детей, рожденных с помощью ВРТ, относятся генетические нарушения, врожденные аномалии, недоношенность, задержка внутриутробного развития, осложнения перинатального периода, отставание в физическом и нервно-психиче-

ском развитии, высокая частота врожденных внутриутробных инфекций, расстройство поведения [14].

Антропометрические параметры детей, рожденных по протоколам вспомогательных репродуктивных технологий

Все работы, связанные с проведением экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), можно разделить на две большие группы в отношении параметров роста и веса детей: где найден их недостаток и соответствующий дефицит, и наоборот – избыток и ожирение.

По данным регистра BPT Австралии и Новой Зеландии, в 2013 г. было установлено 12,4 смертей на 1000 рожденных детей, процент преждевременных родов составил 16,6%, а низкая масса тела при рождении была отмечена у 12,7% детей [15]. По данным канадских ученых, за 2012 г. при использовании протоколов BPT в Канаде от одноплодной беременности на свет появилось 16,5% детей, а также 69,3% двойняшек и 100% тройняшек, при этом низкий вес при рождении имели 21% новорожденных (7,9% – одноплодная беременность, 54,5% – двойняшки и 96,2% – тройняшки), а перинатальная смертность составила 1% на одного ребенка [16]. Полученные данные указывают на увеличение процента детей, имеющих низкую массу тела при рождении, что закономерно связано с частотой многоплодной беременности при использовании процедур BPT. Многоплодная беременность, в свою очередь, является фактором риска преждевременных родов. Так, например, в Латинской Америке в 2013 г. было зарегистрировано 21,8% многоплодных беременностей, из которых 20,7% были двойняшки и 1,1% – тройняшки, при этом преждевременные роды наблюдались при рождении 36,6% двойняшек и 65,5% тройняшек [17]. Кроме того, некоторые исследования были направлены на оценку веса при использовании разных видов эмбрионов. Так, ученые из Пенсильвании оценивали вес при рождении у детей в сравнении с переносом свежих (38 626 новорожденных) и замороженных (18 166 новорожденных) эмбрионов. В результате исследования было выявлено, что вес при срочных и преждевременных родах был достоверно ниже среди детей, рожденных после переноса свежих эмбрионов [18]. В Великобритании было проведено исследование, в котором изучались данные детей, зачатых с помощью BPT (основная группа), в возрасте 9 месяцев, а также 3, 5 и 7 лет в сравнении с детьми, чьи родители вообще не имели проблем с фертильностью (контрольная группа), и детьми, которых родители зачали естественным путем после 24 мес неудачных попыток забеременеть (субфертильная группа). Ученые получили ряд значимых различий, в частности по показателям веса детей, – в группе BPT в возрасте 5 лет дети значимо реже имели избыточный вес, а в возрасте 7 лет – значимо более низкие уровни индекса массы

тела (ИМТ). Вес при рождении также значимо был ниже в группе BPT в сравнении с группой контроля и субфертильной группой [19]. Аналогичные результаты были получены в 2012 г. нидерландскими исследователями. Сравнив 358 новорожденных после свежего переноса эмбриона со 159 детьми, рожденными в результате переноса замороженного эмбриона, ученые выявили, что среди первой группы вес достоверно ниже, чем среди второй. Кроме того, в данной работе была поставлена задача сравнить 2 различные среды для культивирования эмбрионов – HTF и Sage. В результате различий в весе детей, рожденных благодаря культивированию в первой и второй среде, выявлено не было [20]. То есть можно заключить, что низкий вес связан в первую очередь не с самим процессом ЭКО, а с особенностями беременности и родами.

С другой стороны, имеются данные о связи избытка веса у детей и программой ЭКО. В работе американских ученых было выявлено, что в группе ЭКО, среди которых было 69 детей в препубертатном возрасте, статистически достоверно оказались выше вес и рост, чем среди 71 ребенка, зачатых естественным путем. Исследователями была сделана математическая поправка на антропометрические данные родителей и возрастные различия у детей [21]. Ученые получили ряд значимых различий, в частности по показателям веса детей, – в группе BPT в возрасте 5 лет дети значимо реже имели избыточный вес, а в возрасте 7 лет – значимо более низкие уровни ИМТ. Вес при рождении также значимо был ниже в группе BPT в сравнении с группой контроля и субфертильной группой.

Однако есть работы, в которых не было выявлено отличий при проведении различных протоколов BPT и антропометрических показателей. Так, E. Basatemur и соавт. проспективно оценили такие показатели, как вес и рост детей при их рождении, на 5-м году жизни, а также в возрасте 7–9 и 10–12 лет. В исследовании участвовали 3 группы детей: рожденные с помощью ЭКО ($n = 143$), с помощью интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов (ИКСИ) ($n = 166$) и в результате спонтанной беременности ($n = 173$). В рамках данной работы статистически значимых различий выявлено не было [22]. В работе нидерландских исследователей при сравнении 2 групп, состоявших из новорожденных и подростков после ЭКО и естественно наступившей беременности соответственно, различий в весе и росте также не было выявлено. При проведении глубокого анализа было отмечено, что кожная складка в лопаточно-трицепсной области была достоверно меньше среди детей, рожденных с помощью BPT, в то время как общая сумма периферических кожных складок у них оказалась больше, чем у детей, зачатых естественным путем. Эти факты позволяют предполагать, что ЭКО и распределение жировой ткани могут быть взаимосвязаны [23]. Затем было продемонстри-

ровано, что выявляемые существенные различия в весе среди детей, рожденных после ЭКО (как после стандартного протокола стимуляции ($n = 161$), так и с отсутствием стимуляции яичников, т. е. с протоколом естественного цикла ($n = 158$)), и детей, рожденных в результате спонтанной беременности, связаны именно с течением самой беременности, а не с ВРТ [24].

Состояние параметров углеводного обмена у детей, рожденных по программам вспомогательных репродуктивных технологий

В работе Ceelen и соавт. (2008) было отмечено, что у детей, зачатых в результате ЭКО, уровень глюкозы натощак был выше в сравнении с детьми в естественных циклах [25]. Кроме того, известно, что чувствительность к инсулину достоверно ниже в группе детей, рожденных с помощью ВРТ, по сравнению с группой естественно зачатых детей [26]. Также в экспериментальных моделях ЭКО наблюдается нарушение толерантности к глюкозе вне зависимости от диеты [27]. Исследование A. Scott (2010) в эксперименте показало, что самки мышей, рожденные с помощью ВРТ (группа ЭКО и ИКСИ), имеют больший период клиренса глюкозы. Группа самок после ЭКО имеют более высокий уровень инсулина и более высокий пик инсулина через 15 мин после введения глюкозы. Самцы мышей, рожденные в результате применения ЭКО, имеют более высокий уровень инсулина в плазме натощак, чем самцы, рожденные в результате ИКСИ, а также имеют тенденцию к увеличению инсулина натощак по сравнению с самцами, рожденными без применения технологий ВРТ. Через 15 мин после инъекции глюкозы уровень инсулина у самцов, рожденных в результате ЭКО, также выше, чем у самцов, рожденных с помощью ИКСИ, и контрольной группы [28].

Новообразования у детей, зачатых с помощью вспомогательных репродуктивных технологий

В 2017 г. были опубликованы интересные данные еще одного израильского исследования, в котором изучалась частота развития злокачественных онкологических заболеваний у детей, рожденных с использованием процедур ВРТ [29]. При анализе Израильского национального онкологического регистра данных 9042 ребенка, зачатых с помощью ВРТ, и 211 763 ребенка, зачатых спонтанно естественным путем, которые были рождены в период с 1997 по 2004 г., был выявлен 21 случай рака в группе ВРТ (2,2 на 10 000 человеко-лет) и 361 случай рака в группе спонтанных беременностей (1,8 на 10 000 человеко-лет), однако данная разница, несмотря на более высокую частоту встречаемости онкологических заболеваний у детей из группы ВРТ, была статистически незначимой.

Онкологические риски также были изучены учеными из Норвегии, которые провели популяци-

онное когортное исследование и выявили повышенный риск развития лейкемии и лимфомы Ходжкина у детей, зачатых с помощью ВРТ [30]. При этом общий риск развития рака в группе ВРТ обнаружен не был. В ретроспективном когортном исследовании, в котором участвовали 1 085 172 ребенка, родившихся в Дании в период с 1 января 1996 г. по 31 декабря 2012 г., риск развития лейкоза и нейробластомы у детей, рожденных после переноса замороженных эмбрионов, по сравнению с детьми, рожденными от фертильных женщин, был значительно выше (44,4 и 17,5 на 100 000 человеко-лет соответственно; коэффициент опасности 2,43). Для лечения бесплодия использовались такие препараты, как кломифен, гонадотропины и их аналоги, гонадотропин хориона человека, прогестерон, эстроген. Не было значительного увеличения риска, связанного с использованием других ВРТ, включая ЭКО, ИКСИ и гормональное лечение [31].

Систематический поиск проводился по PubMed, Embase, Web of Science, дискуссии по биологической медицине Китая (CBMdisc), полнотекстовой базе данных китайских научных журналов (CQVIP), национальной инфраструктуре знаний Китая (CNKI) и базе данных Wanfang до апреля 2018 г. Интересующие показатели включали гематологические злокачественные новообразования, невральные опухоли и другие солидные опухоли. Результаты показали, что дети, зачатые с помощью ВРТ, имели значительно более высокий риск развития разных форм рака (особенно гематологические злокачественные новообразования, лейкемии, невральные опухоли) [32–34].

Таким образом, достижения современных методов ВРТ в настоящее время позволяют иметь детей парам, у которых было диагностировано бесплодие различной этиологии. При этом изучение состояния здоровья детей, зачатых с помощью ВРТ, может способствовать оптимизации их протоколов с минимизацией рисков для будущего ребенка, что указывает на необходимость более детального анализа данной проблемы.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Samoilova Yu.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2667-4842>

Matveeva M.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9966-6686>

Petrov I.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0697-3896>

Kudlay D.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1878-4467>

Davydova M.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9770-3989>

Ratkina K.R. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9193-1948>

Mitselya E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1429-3604>

Sivolobova T.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1806-9044>

Gaifulina Zh.F. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9976-9498>

Литература

- Новикова Н.О., Ипполитова Л.И. Особенности раннего неонатального периода у детей после экстракорпорального оплодотворения. Вестник новых медицинских технологий 2013; 2: 271–3.
- Williams R.S., Doody K.J., Schattman G.L., Adashi E.Y. Public reporting of assisted reproductive technology outcomes: past, present, and future. *Am J ObstetGynecol* 2015; 212 (2): 157–62. DOI: 10.1016/j.ajog.2014.05.010
- Назаренко Т.А., Мишиева Н.Г. Бесплодие и возраст: пути решения проблемы. 2-е изд. М.: МЕДпресс-информ; 2014. 216 с.
- Steptoe P.C., Edwards R.G. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978; 12 (2): 366.
- Kamel R.M. Assisted Reproductive Technology after the Birth of Louise Brown. *J ReprodInfertil* 2013; 14 (3): 96–109.
- Schieve L.A., Rasmussen S.A., Buck G.M., Schendel D.E., Reynolds M.A., Wright V.C. Are children born after assisted reproductive technology at increased risk for adverse health outcomes? *Obstet Gynecol* 2004; 103 (6): 1154–63.
- Lieberman R.F., Getz K.D., Heinke D., Luke B., Stern J.E., Declercq E.R., et al. Assisted Reproductive Technology and Birth Defects: Effects of Subfertility and Multiple Births. *Birth Defects Res* 2017; 109 (14): 1144–53. DOI:10.1002/bdr2.1055
- Yin L., Hang F., Gu L.J., Xu B., Ma D., Zhu G.J., et al. Analysis of birth defects among children 3 years after conception through assisted reproductive technology in China. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2013; 97: 744–9.
- Wijers C.H., van Rooij I.A., Rassouli R., Wijnen M.H., Broens P.M.A., Sloots C.E.J., et al. Parental subfertility, fertility treatment, and the risk of congenital anorectal malformations. *Epidemiology* 2015; 26: 169–76.
- Bhattacharya S., Kamath M.S. Reducing multiple births in assisted reproduction technology. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2014; 28: 191–9.
- Qin J., Sheng X., Wang H., Liang D., Tan H., Xia J. Assisted reproductive technology and risk of congenital malformations: a meta-analysis based on cohort studies. *Arch Gynecol Obstet* 2015; 292: 777–98.
- ART in Europe, 2014: Ch De Geyter C Calhaz-Jorge M S Kupka C Wyns E Mocanu T Motrenko G Scaravelli J Smeenk S Vidakovic V Goossens, The European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) ART in Europe, 2014: results generated from European registries by ESHRE, Human Reproduction, Volume 33, Issue 9, 1 September 2018, Pages 1586–601. DOI.org/10.1093/humrep/dey242
- Регистр BPT. Отчет за 2017 год. Доступно по: http://www.rahr.ru/d_registr_otchet/RegistrART2017.pdf. Ссылка активна на 10.03.2021.
- Михеева Е.М., Пенкина Н.И. Здоровье детей, рожденных с использованием вспомогательных репродуктивных технологий. Практическая медицина 2014; 9 (85): 47–51.
- Macaldowie A., Lee E., Chambers G.M. Assisted reproductive technology in Australia and New Zealand. 2013.
- Gunby J. Assisted reproductive technologies (ART) in Canada: 2012 results from the Canadian ART Register. Доступно по: <https://cfas.ca/cart-annual-reports/>. Ссылка активна на 13.03.2021.
- Min J.K., Breheny S.A., MacLachlan V., Healy D.L. What is the most relevant standard of success in assisted reproduction? The singleton, term gestation, live birth rate per cycle initiated: the BESST endpoint for assisted reproduction. *Hum Reprod* 2004; 19 (1): 3–7. DOI: 10.1093/humrep/deh028
- Kalra S.K., Ratcliffe S.J., Coutifaris C., Molinaro T., Barnhart K.T. Ovarian Stimulation and low birth weight in newborns conceived through in vitro fertilization. *Obstet Gynecol* 2011; 118 (4): 863–71.
- Zegers-Hochschild F., Schwarze J.E., Crosby J.A., Musri C., Urbina M.T. Latin American network of assisted reproduction (REDLARA). assisted reproductive techniques in Latin america: the Latin American registry, 2013. *JBRA Assist Reprod* 2016; 20 (2): 49–58. DOI: 10.5935/1518-0557.20160013
- Vergouw C.G., Kosteljik E.H., Doejaaren E., Hompes P.G.A., Lambalk C.B., Schats R. The influence of the type of embryo culture medium on neonatal birthweight after single embryo transfer in IVF. *Hum Reprod* 2012; 27 (9): 2619–26.
- Miles H.L., Hofman P.L., Peek J., Harris M., Wilson D., Robinson E.M., et al. *In vitro* fertilization improves childhood growth and metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92 (9): 3441–5.
- Basatemur E., Shevlin M., Sutcliffe A. Growth of children conceived by IVF and ICSI up to 12 years of age. *Reprod BioMed Online* 2010; 20: 144–9.
- Ceelen M., Weissenbruch M.M., Roos J.C., Vermeiden J.P.W., van Leeuwen F.E., Delemarre-van de Waal H.A. Body composition in children and adolescents born after in vitro fertilization or spontaneous conception. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92 (9): 3417–23.
- Pelink M.J., Hadders-Algra M., Haadsma M.L., Nijhuis W.L., Kiewiet S.M., Hoek A., et al. Is the birthweight of singletons born after IVF reduced by ovarian stimulation or by IVF laboratory procedures? *Reprod BioMed Online* 2010; 21: 245–51.
- Ceelen M., van Weissenbruch M.M., Vermeiden J.P., van Leeuwen F.E., Delemarre-van de Waal H.A. Cardiometabolic differences in children born after in vitro fertilization: follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93 (5): 1682–8. DOI: 10.1210/jc.2007-2432
- Chen M., Wu L., Zhao J., Wu F., Davies M.J., Witter G.A., et al. Altered glucose metabolism in mouse and humans conceived by IVF. *Diabetes* 2014; 63 (10): 3189–98. DOI: 10.2337/db14-0103
- Sakka S.D., Loutradis D., Kanaka-Gantenbein C., Margeli A., Papastamataki M., Papassotiriou I., et al. Absence of insulin resistance and low-grade inflammation despite early metabolic syndrome manifestations in children born after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2010; 94: 1693–9.
- Scott K.A., Yamazaki Y., Yamamoto M., Lin Y., Melhorn S.J., Krause E.G., et al. Glucose parameters are altered in mouse offspring produced by assisted reproductive technologies and somatic cell nuclear transfer. *Biol Reprod* 2010; 83 (2): 220–7. DOI: 10.1095/biolreprod.109.082826
- Sutcliffe A.G., Melhuish E., Barnes J., Gardiner J. Health and development of children born after assisted reproductive technology and sub-fertility compared to naturally conceived children: data from a national study. *Pediatr Rep* 2014; 6 (1): 5118. DOI:10.4081/pr.2014.5118
- Fruchter E., Beck-Fruchter R., Hourvitz A., Weiser M., Goldberg S., Fenchel D., et al. Health and functioning of adolescents conceived by assisted reproductive technology. *Fertil Steril* 2017; 107 (3): 774–80. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2016.12.001
- Wang T., Chen L., Yang T., Wang L., Zhao L., Zhang S., et al. Cancer risk among children conceived by fertility treatment. *Int J Cancer* 2019; 144 (12): 3001–13. DOI: 10.1002/ijc.32062
- Lerner-Geva L., Boyko V., Ehrlich S., Mashiach S., Hourvitz A., Haas J., et al. Possible risk for cancer among children born following assisted reproductive technology in Israel. *Pediatr Blood Cancer* 2017; 64 (4). DOI: 10.1002/pbc.26292
- Reigstad M.M., Larsen I.K., Myklebust T.A., Røsbak T.E., Oldereid N.B., Brinton L.A., et al. Risk of Cancer in Children Conceived by Assisted Reproductive Technology. *Pediatrics* 2016; 137 (3). DOI: 10.1542/peds.2015-2061
- Kettner L.O., Henriksen T.B., Bay B., Ramlau-Hansen C.H., Kesmodel U.S. Assisted reproductive technology and somatic morbidity in childhood: a systematic review. *Fertil Steril* 2015; 103 (3): 707–19. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2014.12.095

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 подписными подписями на отдельном листе, фрагменты рисунка обозначаются строчными буквами русского алфавита. Все сокращения и обозначения, использованные на рисунке, должны быть расшифрованы в подписной 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