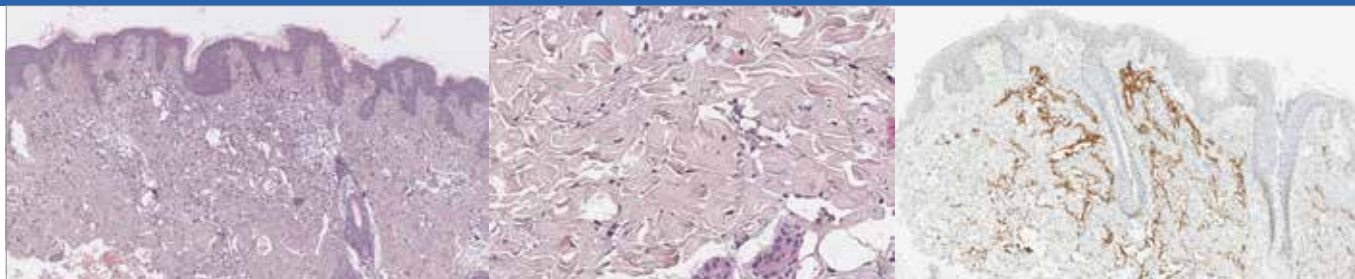


# Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии

№ 3 | 21 | 2022

научно-практический журнал



Гистологическое исследование биоптата кожи. Из статьи Л.А. Хачатрян и соавт., с. 90

13

**Аномальные нестабильные гемоглобины,  
идентифицированные в России за последние 10 лет**

Unstable abnormal hemoglobins found in Russia in the past 10 years

28

**Острый лимфобластный лейкоз высокого риска  
в исследовании ALL-MB 2002**

High-risk acute lymphoblastic leukemia in the ALL-MB 2002 study

42

**The assessment of cytokine-dependent  
hematopoietic cell linker and interleukin-3 levels  
in children with beta-thalassemia major**



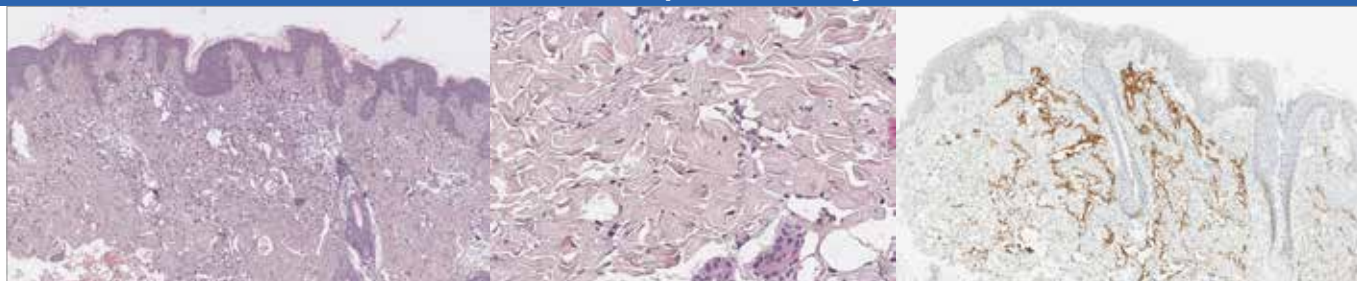
НАУКА —  
ДЕТЯМ



# Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology

№ 3 | 21 | 2022

scientific and practical journal



Histological examination of a skin biopsy specimen. From the article by L.A. Khachatryan et al., p. 90

13

**Unstable abnormal hemoglobins found in Russia  
in the past 10 years**

28

**High-risk acute lymphoblastic leukemia  
in the ALL-MB 2002 study**

42

**The assessment of cytokine-dependent hematopoietic  
cell linker and interleukin-3 levels in children  
with beta-thalassemia major**



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](http://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](http://www.hemoncim.com/authors_en.html). More information on manuscript submission is available at [http://www.hemoncim.com/authors\\_en.html](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](mailto:info@vind-fnkc.ru)

#### Commercial Reprints

For commercial reprints, please contact us via e-mail: [info@vind-fnkc.ru](mailto: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 © 2022 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](mailto: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](http://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](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](http://www.hemoncim.com/authors_en.html)

#### Размещение рекламных материалов

По вопросам размещения рекламы обращайтесь в редакцию. E-mail: [info@vind-fnkc.ru](mailto:info@vind-fnkc.ru)

#### Репринт

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

© 2022 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](mailto:info@vind-fnkc.ru)

#### Founders

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

#### Publisher

LLC «Science and education».  
Address: 17 Vereyskaya Street, Room 311–1, Moscow 121357

#### Editorial office

Editor-in-Chief – G.A. Novichkova  
Address: 17 Vereyskaya Street, Room 311–1, Moscow 121357  
Tel.: +7 (495) 211-04-82  
[www.hemoncim.com](http://www.hemoncim.com)  
E-mail: [journal@fnkc.ru](mailto: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 on 29.03.2017.  
The journal was founded in 2002.

#### Printing office

LLC «PRINT-M».  
Address: 17 Podsosenskiy Lane, Bldg. 1, Room 18, Moscow 101000

*Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*. 2022  
Vol. 21. No. 3. Date of publication 26.09.2022  
The circulation is 3000 copies. The price is free.

#### 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, комната 1

#### Редакция журнала

Главный редактор – Г.А. Новичкова  
Адрес: 121357, Москва, ул. Верейская, д. 17, пом. 311, комната 1  
Тел.: +7 (495) 211-04-82  
[www.hemoncim.com](http://www.hemoncim.com) E-mail: [journal@fnkc.ru](mailto: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 от 29.03.2017.  
Журнал основан в 2002 году.

#### Типография

ООО «ПРИНТ-М».  
Адрес: 101000, Москва, Подсосенский пер., д. 17, стр. 1, офис 18

Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022.  
Том 21. №3. Дата выхода 26.09.2022  
Тираж 3000 экз. Цена свободная.

# ВОПРОСЫ ГЕМАТОЛОГИИ/ОНКОЛОГИИ И ИММУНОПАТОЛОГИИ В ПЕДИАТРИИ

Научно-практический журнал

№ 3 | том 21 | 2022



## 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

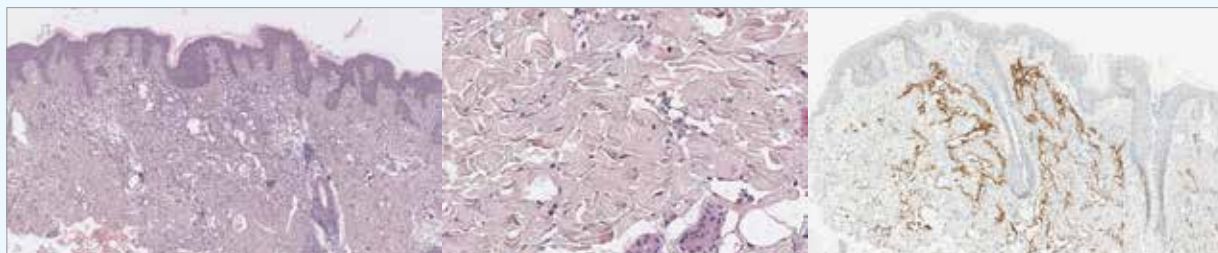
**Chernov V.M.**  
MD, DSc, Professor, Moscow, Russia



# Содержание

© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, 2022, 21 (3)

Оформление обложки:



**Гистологическое исследование биоптата кожи.**  
Из статьи Л.А. Хачатрян и соавт., с. 90

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

### **Аномальные нестабильные гемоглобины, идентифицированные в России за последние 10 лет** 13

М.Е. Лохматова, Н.Е. Соколова, М.В. Красильникова, Е.А. Литвин, Н.А. Карамян, С.Г. Манн, С.А. Плясунова, Н.С. Сметанина

### **Assessment of serum neopterin and kynurenine levels in Egyptian children with sickle cell disease: a single center study** 22

M.A. El-Hawy, H.M. Bedair, A.M.Y.M. Madkour, S.M.T. Moussa, A.A. Mahmoud

### **Острый лимфобластный лейкоз высокого риска в исследовании ALL-MB 2002** 28

Д.В. Литвинов, Н.В. Мякова, О.В. Алейникова, Л.Г. Фечина, Л.М. Минкина, К.Л. Кондратчик, Е.В. Инюшкина, К.С. Асланян, О.В. Рыскаль, Л.И. Жарикова, О.И. Быданов, С.Н. Лагойко, Ю.В. Румянцева, Г.А. Новичкова, А.И. Карачунский

### **The assessment of cytokine-dependent hematopoietic cell linker and interleukin-3 levels in children with beta-thalassemia major** 42

A.A. Mahmoud, M.E. El-Hamid, A.M. El-Hawwary, S.M. Awad, H.M. Abdallah, D.S. Morsi, M.A. El-Hawy

### **Характеристика клинических и лабораторных проявлений в группе пациентов с синдромом атаксии-телеангиэктазии** 47

Т.В. Асекретова, Л.Х. Андержанова, М.Е. Леонтьева, Ю.А. Родина, А.В. Панферова, М.Ю. Алексенко, Д.Е. Першин, М.Б. Хаджиева, С.С. Ларин, Е.В. Райкина, В.В. Лебедев, Н.В. Мякова, А.Ю. Щербина, Е.В. Дерипапа

### **Аутовоспалительное заболевание – синдром PFAPA: опыт одного Центра** 56

А.Л. Козлова, М.Е. Леонтьева, П.Т. Валиева, М.П. Калинина, Е.А. Деордиева, О.А. Швец, Н.Б. Кузьменко, А.А. Мухина, Н.С. Грачев, Г.А. Новичкова, А.Ю. Щербина

## КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

### **MECOM-ассоциированный синдром: обзор литературы и собственные клинические наблюдения** 65

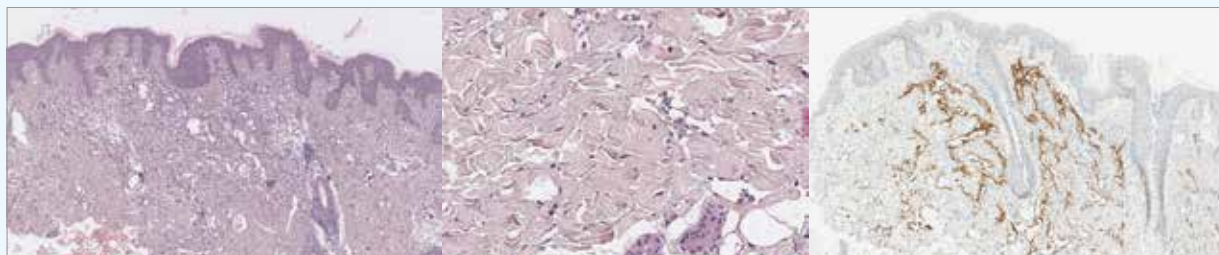
М.Х. Гуржиханова, Г.И. Шестопалов, М.С. Васильева, У.Н. Петрова, К.С. Антонова, Д.В. Федорова, Н.Н. Коцкая, С.А. Радыгина, Л.Б. Лубсанова, Е.К. Донюш, О.С. Финк, Е.А. Пристанскова, Е.В. Скоробогатова, А.В. Павлова, М.А. Курникова, Е.В. Сунцова

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Редкий вариант нестабильного гемоглобина Nakkaḡi в России: описание случая и обзор литературы</b><br>С.Г. Манн, М.В. Красильникова, Н.А. Карамян, М.Е. Лохматова, А.О. Копосова, Е.А. Литвин, С.А. Плясунова                                                                                                                                                                          | 77  |
| <b>Саркома с альтерациями гена <i>BCOR (BCOR-ITD)</i> с изолированным поражением L3-позвонка у мальчика 8 лет</b><br>И.В. Сидоров, А.С. Федорова, Н.П. Макарова, Е.И. Коноплева, А.С. Шарлай, А.В. Панферова, А.Е. Друй, Д.М. Коновалов                                                                                                                                                  | 84  |
| <b>Мультифокальный лимфангиоэндотелиоматоз с тромбоцитопенией/кожно-висцеральный ангиоматоз с тромбоцитопенией</b><br>Л.А. Хачатрян, И.С. Клецкая, А.П. Щербаков                                                                                                                                                                                                                         | 90  |
| <b>Острый лимфобластный лейкоз с транслокацией t(17;19): надежда появилась! Описание случая мультимодальной иммунотерапии у ребенка 3 лет с рефрактерным течением заболевания</b><br>Д.В. Литвинов, И.П. Тесаков, Л.Н. Шелихова, Л.А. Хачатрян, Е.А. Зеркаленкова, Ю.В. Ольшанская, А.Ю. Комков, А.М. Попов, Е.В. Михайлова, А.Н. Ремизов, Н.В. Мякова, Ю.В. Румянцева, А.И. Карачунский | 100 |
| <b>Опыт проведения лапароскопической аппендэктомии у ребенка с ингибиторной формой гемофилии А, получающего профилактическую терапию эмицизумабом</b><br>И.Н. Лаврентьева, В.В. Вдовин, В.Ю. Петров, П.А. Мордвин, Т.В. Шевченко, И.Ю. Копылов, О.А. Тиганова, Э.В. Кумирова, М.Ю. Козлов                                                                                                | 115 |
| <b>ШКОЛА ПО ТРАНСПЛАНТАЦИИ И КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |     |
| <b>Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток: подготовительная терапия, характеристики трансплантата, критерии приживления и сопроводительная терапия</b><br>Д.Н. Балашов, Л.Н. Шелихова, М.А. Масчан                                                                                                                                                                              | 119 |
| <b>ШКОЛА ИММУНОЛОГА – МНЕНИЕ ЭКСПЕРТА</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |     |
| <b>Клиническая характеристика пациентов с дефектами генов <i>SAMD9/SAMD9L</i></b><br>А.Я. Аведова, И.В. Мерсиянова, А.В. Павлова, Э.Р. Султанова, У.Н. Петрова, Д.Н. Балашов, Л.Н. Шелихова, Е.В. Райкина, Д.Е. Першин, А.В. Пшонкин, Д.В. Федорова                                                                                                                                      | 126 |
| <b>ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |     |
| <b>Влияние эритроцитов на свертывание крови</b><br>И.А. Чабин, Н.А. Подоплелова, М.А. Пантелеев                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 136 |
| <b>Вклад электронной микроскопии в исследование нарушений морфологии тромбоцитов</b><br>С.И. Обыденный, И.И. Киреев, М.А. Пантелеев                                                                                                                                                                                                                                                      | 142 |

# Content

© 2022 «D. Rogachev NMRCPhO», 2022, 21 (3)

Cover design:



**Histological examination of a skin biopsy specimen.**  
From the article by L.A. Khachatryan et al., p. 90

## ORIGINAL ARTICLE

- Unstable abnormal hemoglobins found in Russia in the past 10 years** 13  
M.E. Lokhmatova, N.E. Sokolova, M.V. Krasilnikova, E.A. Litvin, N.A. Karamjan, S.G. Mann, S.A. Plyasunova, N.S. Smetanina
- Assessment of serum neopterin and kynurenine levels in Egyptian children with sickle cell disease: a single center study** 22  
M.A. El-Hawy, H.M. Bedair, A.M.Y.M. Madkour, S.M.T. Moussa, A.A. Mahmoud
- High-risk acute lymphoblastic leukemia in the ALL-MB 2002 study** 28  
D.V. Litvinov, N.V. Myakova, O.V. Aleynikova, L.G. Fechina, L.M. Minkina, K.L. Kondratchik, E.V. Inyushkina, K.S. Aslanyan, O.V. Ryskal, L.I. Zharikova, O.I. Bydanov, S.N. Lagoyko, Yu.V. Rumyantseva, G.A. Novichkova, A.I. Karachunskiy
- The assessment of cytokine-dependent hematopoietic cell linker and interleukin-3 levels in children with beta-thalassemia major** 42  
A.A. Mahmoud, M.E. El-Hamid, A.M. El-Hawwary, S.M. Awad, H.M. Abdallah, D.S. Morsi, M.A. El-Hawy
- Clinical and laboratory characteristics of a group of patients with ataxia-telangiectasia syndrome** 47  
T.V. Asekretova, L.H. Anderzhanova, M.E. Leontyeva, Yu.A. Rodina, A.V. Panferova, M.Yu. Alexenko, D.E. Pershin, M.B. Khadzhieva, S.S. Larin, E.V. Raykina, V.V. Lebedev, N.V. Myakova, A.Yu. Shcherbina, E.V. Deripapa
- An autoinflammatory disease – PFAPA syndrome: a single-center experience** 56  
A.L. Kozlova, M.E. Leontieva, P.T. Velieva, M.P. Kalinina, E.A. Deordieva, O.A. Shvets, N.B. Kuzmenko, A.A. Mukhina, N.S. Grachev, G.A. Novichkova, A.Yu. Shcherbina

## CLINICAL OBSERVATION

- MECOM-associated syndrome: a literature review and case reports** 65  
M.Kh. Gurzhikhanova, G.I. Shestopalov, M.S. Vasilyeva, U.N. Petrova, K.S. Antonova, D.V. Fedorova, N.N. Kotskaya, S.A. Radygina, L.B. Lubsanova, E.K. Donyush, O.S. Fink, E.A. Pristanskova, E.V. Skorobogatova, A.V. Pavlova, M.A. Kurnikova, E.V. Suntsova
- Rare unstable hemoglobin Hakkari in Russia: a case report and literature review** 77  
S.G. Mann, M.V. Krasilnikova, N.A. Karamjan, M.E. Lokhmatova, A.O. Kuposova, E.A. Litvin, S.A. Plyasunova



|                                                                                                                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Sarcoma with <i>BCOR</i> gene alterations (<i>BCOR-ITD</i>) of the L3 vertebra in an 8-year-old boy</b>                                                                                                         | 84  |
| I.V. Sidorov, A.S. Fedorova, N.P. Makarova, E.I. Konopleva, A.S. Sharlai, A.V. Panferova, A.E. Druy, D.M. Konovalov                                                                                                |     |
| <b>Multifocal lymphangioendotheliomatosis with thrombocytopenia/cutaneovisceral angiomatosis with thrombocytopenia</b>                                                                                             | 90  |
| L.A. Khachatryan, I.S. Kletskeya, A.P. Scherbakov                                                                                                                                                                  |     |
| <b>Acute lymphoblastic leukemia with the t(17;19) translocation: hope has appeared! Multimodal immunotherapy in a 3-year-old child with refractory disease: a case report</b>                                      | 100 |
| D.V. Litvinov, I.P. Tesakov, L.N. Shelikhova, L.A. Khachatryan, E.A. Zerkalenskova, Yu.V. Olshanskaya, A.Yu. Komkov, A.M. Popov, E.V. Mikhaylova, A.N. Remizov, N.V. Myakova, Yu.V. Rumyantseva, A.I. Karachunskiy |     |
| <b>Laparoscopic appendectomy in a child with hemophilia A with inhibitors receiving prophylactic treatment with emicizumab</b>                                                                                     | 115 |
| I.N. Lavrentyeva, V.V. Vdovin, V.Yu. Petrov, P.A. Mordvin, T.V. Shevchenko, I.Yu. Kopylov, O.A. Tiganova, E.V. Kumirova, M.Yu. Kozlov                                                                              |     |

#### SCHOOL ON TRANSPLANTATION AND CELLULAR THERAPY

|                                                                                                                                            |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Hematopoietic stem cell transplantation: preparation treatment, graft characteristics, criteria of engraftment, and supportive care</b> | 119 |
| D.N. Balashov, L.N. Shelikhova, M.A. Maschan                                                                                               |     |

#### SCHOOL OF IMMUNOLOGY – EXPERT OPINION

|                                                                                                                                                                      |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Clinical characteristics of patients with the <i>SAMD9/SAMD9L</i> gene defects</b>                                                                                | 126 |
| A.Ya. Avedova, I.V. Mersyanova, A.V. Pavlova, E.R. Sultanova, U.N. Petrova, D.N. Balashov, L.N. Shelikhova, E.V. Raykina, D.E. Pershin, A.V. Pshonkin, D.V. Fedorova |     |

#### LITERATURE REVIEW

|                                                                                            |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Red blood cells contribution in blood coagulation</b>                                   | 136 |
| I.A. Chabin, N.A. Podoplelova, M.A. Panteleev                                              |     |
| <b>The electron microscopy contribution to platelet structural pathology investigation</b> | 142 |
| S.I. Obyednyy, I.I. Kireev, M.A. Panteleev                                                 |     |



## 2 сентября свой юбилей отметил Николай Николаевич Володин

**2** сентября 2022 года выдающемуся ученому в области неонатологии и перинатальной медицины, основоположнику ведущей школы ответственных врачей-неонатологов, заслуженному врачу России, лауреату премии Правительства России и многочисленных профессиональных наград академику РАН, доктору медицинских наук Николаю Николаевичу Володину исполнилось 75 лет.

Н.Н. Володин родился в с. Богдановке Кировоградской области УССР в семье военнослужащего, участника Великой Отечественной войны и учительницы, участницы партизанского движения.

После окончания средней школы в 1965 году Николай Николаевич поступил на педиатрический факультет Второго Московского ордена Ленина государственного медицинского института им. Н.И. Пирогова (2-й МОЛГМИ им. Н.И. Пирогова; ныне ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России) и уже на 3-м курсе стал активным научным исследователем на кафедре ученика Г.Н. Сперанского – академика РАМН, профессора В.А. Таболина.

С 1973 года Н.Н. Володин работал старшим лаборантом на кафедре госпитальной педиатрии 2-го МОЛГМИ им. Н.И. Пирогова. В 1974 году он поступил в заочную аспирантуру, которую возглавлял В.А. Таболин. В 1976 году Николай Николаевич защитил кандидатскую диссертацию, а в 1989 году – докторскую диссертацию. Научная жизнь Н.Н. Володина тесно связана с кафедрой детских болезней №2 2-го МОЛГМИ им. Н.И. Пирогова, на которой он прошел путь от ассистента до профессора. В 1988 году Николай Николаевич стал сначала заведующим курсом неонатологии факультета усовершенствования врачей при кафедре детских болезней №2, а с 1990 по 2009 год являлся бессменным заведующим кафедрой неонатологии факультета усовершенствования врачей ГОУ ВПО «Российский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (РГМУ). С 1993 года он возглавлял Управление учебных заведений Минздравмедпрома России, а с 1999 года по июль 2003 года занимал пост руководителя Департамента образовательных медицинских учреждений и кадровой политики Минздрава России. С 2004 по

2007 год Н.Н. Володин являлся заместителем руководителя Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации. В декабре 2007 года был избран ректором РГМУ.

В последующие 4 года Н.Н. Володин произвел революционные преобразования в вузе, организовав несколько новых факультетов и фундаментальных прорывных исследований, позволивших РГМУ стать первым в России научно-исследовательским медицинским университетом.

С 2011 года до настоящего времени Николай Николаевич Володин руководит отделом педиатрии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева).

Академик РАН Н.Н. Володин является авторитетом в области неонатологии и перинатальной медицины. Он – основоположник ведущей школы отечественных врачей-неонатологов и бессменный лидер Российской ассоциации специалистов перинатальной медицины (РАСПМ). К настоящему времени Н.Н. Володиным опубликовано более 550 научных работ, среди которых 25 монографий и руководств, 12 учебников, им получено 11 авторских свидетельств и 4 патента на изобретения.

Являясь учеником, соратником и преемником академика В.А. Таболина, Николай Николаевич в 70-е годы XX века внес заметную лепту в развитие метаболической микропедиатрии. Тем не менее отправной точкой на пути к современной перинатальной медицине можно смело считать цикл научно-исследовательских работ Н.Н. Володина, посвященных неонатальной адаптации недоношенных детей, родившихся с очень низкой массой тела. Результаты этих исследований, начатых в начале 80-х годов прошлого века, были обобщены в докторской диссертации Николая Николаевича, выводы и практические рекомендации которой до сих пор служат основой для организации медицинской помощи глубоко недоношенным детям.

Важно отметить, что завершающий этап работы над докторской диссертацией (вторая половина 80-х годов прошлого века) совпал для Николая Николаевича с организацией под его руководством на базе 2-го МОЛГМИ им. Н.И. Пирогова одной из первых

в стране кафедр повышения квалификации врачей по только что получившей официальное признание специальности «неонатология». Благодаря этому многие научные разработки быстро внедрялись в клиническую практику.

Создание кафедры и увеличение количества единомышленников позволило Н.Н. Володину существенно расширить круг решаемых научных задач и начать процесс внедрения западных перинатальных технологий в акушерские стационары нашей страны.

Отдельного внимания заслуживает вклад Николая Николаевича в развитие современной перинатальной неврологии и профилактику перинатальных поражений центральной нервной системы (ЦНС) и органов чувств. По мере повышения выживаемости глубоко недоношенных детей стало понятно, что ключевыми вопросами их выхаживания являются предупреждение инвалидизирующих заболеваний и повышение качества жизни.

Внедрение современных методов диагностики и лечения в отечественную неонатологическую практику требовало кардинального пересмотра организации перинатальной помощи больным новорожденным и недоношенным детям. Развернутое научное обоснование необходимости фундаментальной перестройки организации медицинской помощи новорожденным детям Н.Н. Володин дал в своем программном выступлении «Перинатология. Исторические вехи, перспективы развития» в 2006 году, а уже в 2007 году под его редакцией вышло в свет первое в нашей стране «Руководство по организации и деятельности перинатального центра», которое заложило основу для современной трехуровневой системы перинатальной помощи.

Особая роль принадлежит Н.Н. Володину в организации медицинской реабилитации детей с онкологическими, гематологическими заболеваниями и перинатальными расстройствами. Он был организатором и первым директором лечебно-реабилитационного научного центра «Русское поле» НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Николай Николаевич в течение 10 лет возглавлял этический комитет НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, является членом Президиума Союза педиатров России и Комиссии по здравоохранению Высшего совета партии «Единая Россия», Центральной аккредитационной комиссии Минздрава России. Во всех уголках нашей родины его знают как президента РАСПМ, которую Николай Николаевич возглавляет уже 27 лет.

Сейчас РАСПМ объединяет врачей более 20 специальностей, являясь междисциплинарным научно-практическим центром, принимающим участие в подготовке и реализации проектов доку-

ментов, необходимых для качественного оказания помощи пациентам. А началось это в 1995 году, когда после обсуждений на I Съезде РАСПМ группой экспертов были разработаны методические рекомендации «О совершенствовании первичной и реанимационной помощи новорожденным в родильном зале», которые были утверждены Приказом министра здравоохранения России №372 от 28 декабря 1995 года в качестве методических указаний, обязательных для применения во всех акушерских стационарах России. С тех пор подготовка клинических рекомендаций и их обновление в соответствии с требованиями современности стали одними из важнейших направлений работы РАСПМ, а подпись Н.Н. Володина на титульном листе – гарантией качества подготовленных материалов.

Начиная с 2006 года, под эгидой РАСПМ проводятся ежегодные конгрессы специалистов перинатальной медицины, посвященные современным вопросам организации и качества оказания медицинской помощи, а также уделяющие большое внимание освещению достижений современных технологий и возможностям их широкого применения в перинатологии. Помимо ежегодных конгрессов под руководством Николая Николаевича РАСПМ проводит научно-практические мероприятия как регионального, так и всероссийского масштаба.

Достижения российских врачей-перинатологов вызывают уважение у зарубежных коллег, тесно сотрудничающих со специалистами РАСПМ. В 2013 году в Москве с успехом прошел XI Всемирный конгресс по перинатальной медицине, участие в котором приняли 2200 специалистов из 91 страны. На открытии Конгресса с приветственной речью выступил Президент Российской Федерации В.В. Путин, который подчеркнул важность совместной работы перинатологов для развития мировой медицинской науки и практики.

В том же году РАСПМ и некоммерческим партнерством «Общество по развитию медицины и здравоохранения» была учреждена первая и единственная в области перинатологии премия «Первые лица». Экспертный совет Премии возглавил Н.Н. Володин. За 9 лет лауреатами Премии заслуженно стали как коллективы учреждений здравоохранения, так и специалисты, внесшие значимый вклад в развитие российской перинатологии.

Николай Николаевич Володин всегда выступал и продолжает выступать идеологом объединения врачей для выполнения главной миссии – спасения жизни детей. Пожелаем ему творческого долголетия и профессиональных успехов во благо детей.

**Коллектив ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России**

DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-13-21

# Аномальные нестабильные гемоглобины, идентифицированные в России за последние 10 лет

М.Е. Лохматова, Н.Е. Соколова, М.В. Красильникова, Е.А. Литвин,  
Н.А. Карамян, С.Г. Манн, С.А. Плясунова, Н.С. Сметанина

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

С 2010 по 2020 г. включительно в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России обследованы 197 детей с гемолитической анемией неустановленной этиологии, у 54 из них выявлена гемоглобинопатия, обусловленная аномальным нестабильным гемоглобином: Hb Monroe/Kairouan, Hb Tacoma, Hb Köln/San Francisco, Hb Cheverly, Hb City of Hope, Hb Southampton/Casper, Hb M-Hyde Park/Akita/Milwaukee-2, Hb Buenos Aires/Bryn Mawr, Hb Louisville/București, Hb Genova/Hyogo, Hb Roseau-Pointe a Pitre, Hb Bristol/Alesha, Hb Henri Mondor, Hb Knossos, Hb Leiden, Hb Little Venice, Hb Olmsted, Hb Sabine, Hb Showa-Yakushiji, Hb Terre Haute, Hb Tübingen, Hb Quin-Hai. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Родители пациентов подписали информированное согласие на проведение молекулярно-генетического исследования и дали свое разрешение использовать персональные данные и фотографии детей в научных исследованиях и публикациях.

**Ключевые слова:** талассемия, гемоглобинопатии, нестабильный гемоглобин, гемолитические анемии

Лохматова М.Е. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022; 21 (3): 13–21. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-13-21

## Unstable abnormal hemoglobins found in Russia in the past 10 years

M.E. Lokhmatova, N.E. Sokolova, M.V. Krasilnikova, E.A. Litvin, N.A. Karamjan, S.G. Mann, S.A. Plyasunova, N.S. Smetanina

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

From 2010 to 2020, we investigated 197 children with hemolytic anemia of unknown etiology at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation. Fifty-four of them were found to have hemoglobinopathy caused by unstable abnormal hemoglobins: Hb Monroe/Kairouan, Hb Tacoma, Hb Köln/San Francisco, Hb Cheverly, Hb City of Hope, Hb Southampton/Casper, Hb M-Hyde Park/Akita/Milwaukee-2, Hb Buenos Aires/Bryn Mawr, Hb Louisville/București, Hb Genova/Hyogo, Hb Roseau-Pointe a Pitre, Hb Bristol/Alesha, Hb Henri Mondor, Hb Knossos, Hb Leiden, Hb Little Venice, Hb Olmsted, Hb Sabine, Hb Showa-Yakushiji, Hb Terre Haute, Hb Tübingen, Hb Quin-Hai. 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 patients' parents signed the informed consent for molecular genetic testing and gave their consent to the use of their children's data, including photographs, for research purposes and in publications.

**Key words:** thalassemia, hemoglobinopathies, unstable hemoglobin, hemolytic anemias

Lokhmatova M.E., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (3): 13–21. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-13-21

Гемоглобинопатии – группа широко распространенных в мире генетических заболеваний, обусловленных качественными нарушениями синтеза глобиновых цепей. К этой группе относятся гемолитическая анемия вследствие нестабильного гемоглобина (НГ), серповидно-клеточная болезнь, гемолитическая анемия вследствие HbE- и HbE- $\beta$ -талассемии. В настоящее время около 5% населения мира имеют те или иные глобиновые аномалии [1].

НГ сравнительно редкая аномалия, всего известно около 250 подобных вариантов [2]. В большинстве случаев мутация затрагивает  $\beta$ -глобиновую, реже  $\alpha$ -глобиновую цепь. Гемоглобин человека имеет тетрамерную структуру, за счет нековалентных связей сохраняется соединение между глобиновыми субъединицами и гемовыми группами. Амино-

кислотные замены и делеции приводят к нарушению стабильности этих соединений, что сопровождается разрушением молекулы гемоглобина. Существует тонкий баланс, позволяющий молекуле гемоглобина переходить из одного состояния в другое с усилением функции связывания кислорода при сохранении структурной целостности. У многих НГ отмечена повышенная склонность к окислению в метгемоглобин, при этом наблюдается цианоз, а не гемолиз.

Заболевание, возникающее в результате наличия аномального гемоглобина, крайне гетерогенно по тяжести клинических проявлений – от легких гемолитических кризов, которые провоцируются сильными окислителями, до тяжелого, трансфузионнозависимого хронического гемолиза. Основными клиниче-

© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России  
Поступила 29.05.2021  
Принята к печати 15.07.2021

### Контактная информация:

Лохматова Марина Евгеньевна,  
канд. мед. наук, врач-гематолог,  
заведующая консультативным отделением  
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России  
Адрес: 117997, Москва,  
ул. Саморы Машела, 1  
E-mail: marina.lokhmatova@fccho-moscow.ru

© 2022 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 29.05.2021

Accepted 15.07.2021

### Correspondence:

Marina E. Lokhmatova,  
Cand. Med. Sci., a hematologist, Head  
of the Outpatient Clinic, Dmitry Rogachev  
National Medical Research Center  
of Pediatric Hematology, Oncology and  
Immunology, Ministry of Healthcare  
of the Russian Federation  
Address: 1 Samory Mashela St.,  
117997, Moscow, Russia  
E-mail: marina.lokhmatova@fccho-moscow.ru

скими проявлениями являются анемия различной степени тяжести, желтуха, что в среднетяжелых и тяжелых случаях сопровождается спленомегалией.

НГ наследуются как аутосомно-доминантный признак, передаваемый от одного из родителей. Примерно 1/3 случаев – результат спонтанных мутаций. К наиболее распространенным в мире НГ относят Hb Köln ( $\beta 98(\text{FG5})\text{Val} \rightarrow \text{Met}$ ) и Hb Zürich ( $\beta 63(\text{E7})\text{His} \rightarrow \text{Arg}$ ), которые встречаются во многих популяциях, в том числе на территории Российской Федерации и республик бывшего СССР, а также Hb Moscva ( $\beta 24\text{Gly} \rightarrow \text{Asn}$ ), Hb Volga ( $\beta 27\text{Ala} \rightarrow \text{Asn}$ ), Hb Alesha ( $\beta 67\text{Val} \rightarrow \text{Met}$ ) и аномальный НГ, обладающий повышенной аффинностью к кислороду, – Hb Mozhaik ( $\beta 92\text{His} \rightarrow \text{Arg}$ ) [2].

В силу редкости патологии своевременная диагностика наследственной гемолитической анемии вследствие НГ до сих пор вызывает большие трудности.

**Цель работы** – провести анализ выявленных случаев носительства НГ в России.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С 2010 по 2020 г. включительно в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России обследованы 197 детей с гемолитической анемией неустановленной этиологии, из них у 54 детей (26 девочек и 28 мальчиков) в возрасте от 2 до 18 лет (медиана 11 лет) при электрофорезе гемоглобина была выявлена аномальная фракция. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева

Всем 54 детям проводился клинический осмотр, исследовались общий анализ крови на автоматическом гематологическом анализаторе (Sysmex ХЕ-2100, Sysmex Corporation, Япония), фракции гемоглобина методом капиллярного электрофореза (CAPILLARYS 2 NEO NAT FAST, Sebia S.A., Франция), цепи глобина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (УФ-хроматограф Waters ACQUITY UPLC H-Class system), стабильность гемоглобина (n-бутаноловый тест). Для верификации аномального гемоглобина проводилось молекулярно-генетическое исследование глобиновых генов методом секвенирования по Сэнгеру (16-капиллярный секвенатор 3130xl Genetic Analyzer, Applied Biosystems/Hitachi, США/Япония). Родители пациентов подписали информированное согласие на проведение молекулярно-генетического исследования и дали свое разрешение использовать персональные данные и фотографии детей в научных исследованиях и публикациях.

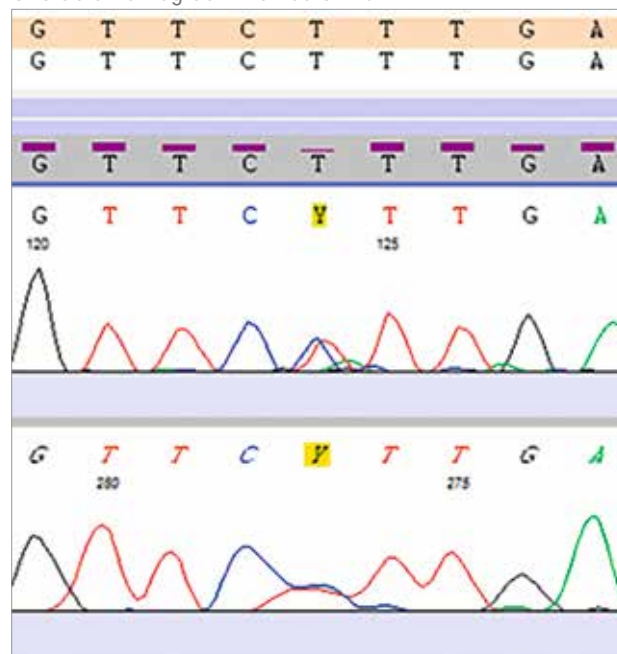
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При проведении секвенирования генома по Сэнгеру выявлены следующие аномалии гемоглобина (рисунки 1–9): Hb Monroe/Kairouan ( $n = 12$ ), Hb Tacoma ( $n = 6$ ), Hb Köln/SanFrancisco ( $n = 5$ ), Hb Cheverly ( $n = 4$ ), Hb City of Hope ( $n = 3$ ), Hb Southampton/Casper ( $n = 3$ ), Hb M-Hyde Park/Akita/Milwaukee-2 ( $n = 3$ ), Hb Buenos Aires/Bryn Mawr ( $n = 3$ ), Hb Louisville/Bucureşti ( $n = 2$ ), Hb Genova/Hyogo ( $n = 2$ ), Hb Roseau-Pointe a Pitre ( $n = 2$ ), Hb Bristol/Alesha ( $n = 1$ ), Hb Henri Mondor ( $n = 1$ ), Hb Leiden ( $n = 1$ ), Hb Little Venice ( $n = 1$ ), Hb Olmsted ( $n = 1$ ), Hb Sabine ( $n = 1$ ), Hb Showa-Yakushiji ( $n = 1$ ), Hb Terre Haute ( $n = 1$ ), Hb Tübingen ( $n = 1$ ) и Hb Knossos ( $n = 1$ ) (таблица).

У 11 пациентов (5 мальчиков и 6 девочек) с аномальным НГ Hb Monroe/Kairouan ( $HBB \text{ CD30 AGG} > \text{ACG}$  ( $\text{Arg30Thr}$ )) снижение гемоглобина отмечалось с 3 месяцев жизни с колебаниями от 68 до 106 г/л, что у одного из них сопровождалось увеличением размеров селезенки (+2 см от края реберной дуги), также у детей наблюдались слабость, бледность, субиктеричность кожного покрова и слизистых оболочек, талассемическая деформация черепа. У 1 ребенка (мальчик Х.В., этнический татарин) выявлено сочетание гетерозиготных мутаций, ассоциированных с носительством НГ Hb Knossos и Hb Monroe. Симптомы также развивались в первом полугодии жизни, до настоящего времени пациент нуждается в регулярной трансфузионной терапии, выявлены гепатоспленомегалия, талассемическая деформация черепа.

**Рисунок 1**  
НГ Hb Louisville

Figure 1  
Unstable hemoglobin Hb Louisville





**Таблица**  
Характеристика пациентов, включенных в исследование  
Table  
Characteristics of the patients included in the study

| Hb<br>Unstable hemoglobin                                                                       | Вариант<br>Variant                                                           | Возраст первых клинических проявлений<br>The age of the first clinical manifestations | Национальность<br>Nationality                                                                                  | Гемолиз<br>Hemolysis   |                 | Степень анемии<br>The degree of anemia | MCV, фл<br>MCV, fL | MCH, пг<br>MCH, pg | Тест на нестабильность (п-бутанол)<br>Instability Test (n-butanol) |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-----------------|----------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                 |                                                                              |                                                                                       |                                                                                                                | хронический<br>chronic | кризы<br>crises |                                        |                    |                    |                                                                    |
| 1                                                                                               | 2                                                                            | 3                                                                                     | 4                                                                                                              | 5                      | 6               | 7                                      | 8                  | 9                  | 10                                                                 |
| Hb Monroe/Kairouan (n = 11)                                                                     | CD 30 AGG→ACG                                                                | 12 месяцев<br>12 months                                                               | Русские – 5, арабы – 1, азербайджанцы – 2, татары – 3<br>Russians – 5, Arabs – 1, Azerbaijanis – 2, Tatars – 3 | +                      |                 | I                                      | 56,9               | 18,1               | ++++                                                               |
| Hb Monroe/Kairouan/Knossos (n = 1)                                                              | CD 30 AGG→ACG/CD27 GCC/TCC Ala/Ser                                           | 1 месяц<br>1 month                                                                    | Татарин<br>Tatars                                                                                              | +                      |                 | II                                     | 56,4               | 17,9               | ++++                                                               |
| Hb Tasoma (n = 5)                                                                               | CD30 AGG→AGT Arg>Ser                                                         | 12 месяцев<br>12 months                                                               | Русские<br>Russians                                                                                            | 0/+                    |                 | I                                      | 76–77              | 25,7–25,6          | +                                                                  |
| Hb Tasoma/β-талассемия (n = 1)<br>Hb Tasoma/β-thalassemia (n = 1)                               | IVS1-1 G→A/CD30 AGG→AGT Arg>Ser                                              | 24 месяца<br>24 months                                                                | Русский<br>Russian                                                                                             |                        | +               | II                                     | 51,4               | 17,1               | ++                                                                 |
| Hb Köln/SanFrancisco (n = 5)                                                                    | CD98 GTG→ATG                                                                 | 3–8 лет<br>3–8 years                                                                  | Русские<br>Russians                                                                                            |                        | +               | II                                     | 84,4–83,9          | 26–25,01           | ++                                                                 |
| Hb Cheverly (n = 4)                                                                             | CD45 TTT>TCT Phe>Ser                                                         | 5 лет<br>5 years                                                                      | Русские<br>Russians                                                                                            | +                      |                 | I                                      | 78                 | 27                 | ++                                                                 |
| Hb City of Hope (n = 1)                                                                         | CD69 GGT→AGT Gly>Ser                                                         | 3 года<br>3 years                                                                     | Армянин<br>Armenian                                                                                            | +                      |                 | I                                      | 76                 | 25,8               | +                                                                  |
| Hb City of Hope/β-талассемия (n = 2)<br>Hb City of Hope/β-thalassemia (n = 2)                   | CD69 GGT→AGT Gly>Ser/<br>CD15 TGG→TGA<br>CD69 GGT→AGT Gly>Ser/<br>IVS1-6 T>C | 1 год 3 месяца<br>1 год 8 месяцев<br>1 year and 3 months<br>1 year and 8 months       | Армяне – 1,<br>Русские – 1<br>Armenians – 1,<br>Russians – 1                                                   | +                      |                 | I                                      | 77                 | 24,5               | +                                                                  |
| Hb Southampton/Casper (n = 3)                                                                   | CD 106 CTG→CCG                                                               | 1 месяц<br>1 month                                                                    | Русские – 2,<br>татары – 1<br>Russians – 2,<br>Tatars – 1                                                      | +                      |                 | II                                     | 66,4               | 21,9               | ++                                                                 |
| Hb M-Hyde Park/Akita/Milwaukee-2 (n = 3)                                                        | CD92 cacc→tac                                                                | 2 года 7 месяцев<br>2 years and 7 months                                              | Русские – 2,<br>турки – 1<br>Russians – 2,<br>Turks – 1                                                        | +                      |                 | I                                      | 75                 | 27,3               | +                                                                  |
| Hb Buenos Aires/Bryn Mawr (n = 3)                                                               | CD85 TTT/TCT Phe/Ser                                                         | 7 лет 6 месяцев<br>7 years and 6 months                                               | Русские<br>Russians                                                                                            |                        | +               | I                                      | 104,4              | 32,5               | +++                                                                |
| Hb Louisville/București (n = 2)                                                                 | CD42 TTT/TTA Phe/Leu                                                         | 1 месяц<br>1 month                                                                    | Русские<br>Russians                                                                                            | +                      |                 | II                                     | 67                 | 28,3               | ++++                                                               |
| Hb Genova/Hyogo (n = 2)                                                                         | CD28 CTG/CCG Leu/Pro                                                         | 4 года<br>4 years                                                                     | Русские – 1,<br>молдаване – 1<br>Russians – 1,<br>Moldavians – 1                                               |                        | +               | I                                      | 87,5               | 26,6               | +++                                                                |
| Hb Roseau-Pointe a Pitre (n = 1)                                                                | CD90 GAG→GGG                                                                 | 3 месяца<br>3 months                                                                  | Испанка<br>Spaniards                                                                                           | –                      | +               | I                                      | 80,8               | 27                 | +                                                                  |
| Hb Roseau-Pointe a Pitre/β-талассемия (n = 1)<br>Hb Roseau-Pointe a Pitre/β-thalassemia (n = 1) | CD90 GAG→GGG/-α3.7/αα                                                        | 1 месяц<br>1 month                                                                    | Русский<br>Russian                                                                                             | +                      |                 | II                                     | 54,6               | 18,3               | +                                                                  |

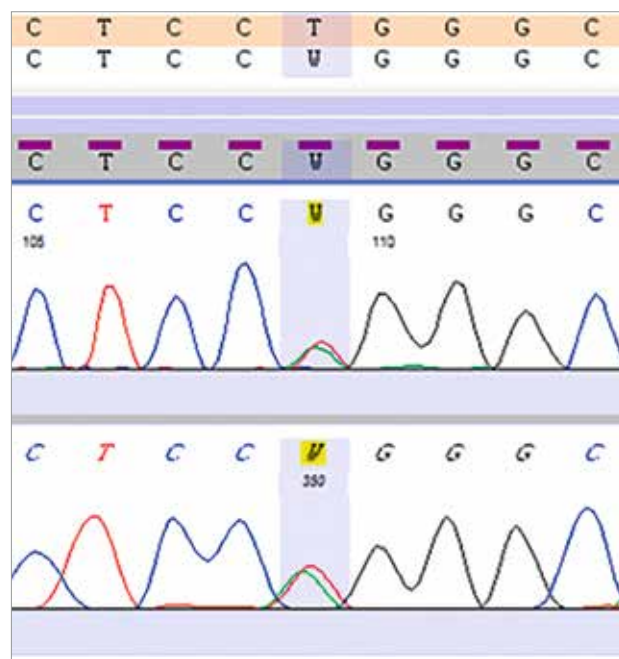
| 1                          | 2                            | 3                                       | 4                             | 5   | 6 | 7    | 8    | 9    | 10  |
|----------------------------|------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------|-----|---|------|------|------|-----|
| Hb Henri Mondor (n = 1)    | CD26 GAG→GTG                 | 3 года 4 месяца<br>3 years and 4 months | Азербайджанка<br>Azerbaijanis | +   |   | I    | 78   | 28,1 | +   |
| Hb Leiden (n = 1)          | Glu6(7)del                   | 3 года<br>3 years                       | Русский<br>Russian            |     | + | I-II | 68   | 21   | ++  |
| Hb Little Venice (n = 1)   | CD42 TTT/LGT Phe/Cys         | 9 месяцев<br>9 months                   | Украинец<br>Ukrainian         | +   |   | I-II | 71   | 22,3 | +   |
| Hb Olmsted (n = 1)         | CD141 CTG→CGG Leu>Arg        | 1 год 6 месяцев<br>1 year and 6 months  | Грузин<br>Georgian            | +   |   | I    | 68   | 19,8 | ++  |
| Hb Sabine (n = 1)          | CD91 CTG/CCG Leu/Pro         | 6 лет 5 месяцев<br>6 years and 5 months | Русский<br>Russian            | +/- |   | I    | 65,8 | 21   | +++ |
| Hb Showa-Yakushiji (n = 1) | CD110 CTG/CCG Leu/Pro        | 4 месяца<br>4 months                    | Араб<br>Arab                  | +   |   | I-II |      |      | ++  |
| Hb Terre Haute (n = 1)     | CD106 (CTG→CGG)<br>Leu106Arg | 2 года<br>2 years                       | Русский<br>Russian            | +   |   | I    |      |      | +   |
| Hb Tübingen (n = 1)        | CD106 CTG→CAG<br>(Leu106Gln) | 2 месяца<br>2 months                    | Русский<br>Russian            | +   |   | I    |      |      | ++  |

В этой группе было 5 этнически русских детей, 4 татарина, 2 азербайджанца и 1 араб.

Hb Tacoma (*HBB* CD30 AGG>AGT (Arg30Ser)) диагностирован у 6 этнически русских пациентов. При этом у 3 девочек и 2 мальчиков заболевание дебютировало в возрасте 1 года и протекало с анемией I степени с незначительной гипохромией и микроцитозом эритроцитов (средний объем эритроцита (MCV) 76–77 фл, среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH) 25,4–25,6 пг). У девочки P.O.,

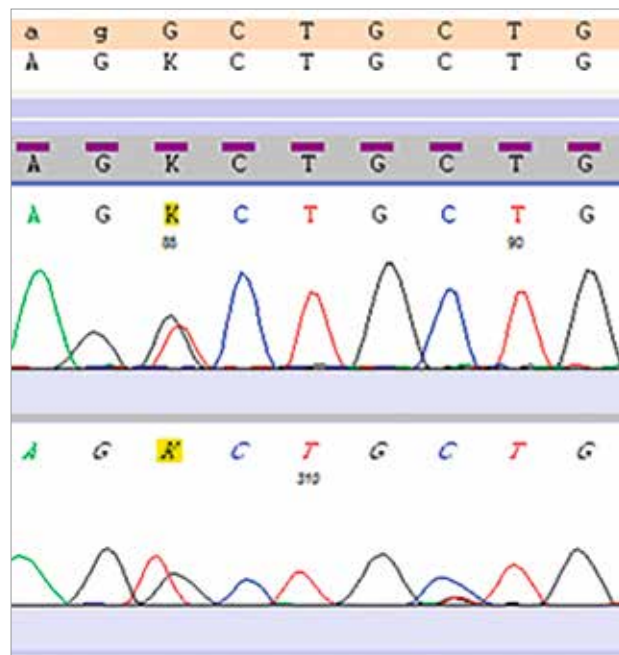
**Рисунок 2**  
НГ Hb Tübingen

Figure 2  
Unstable hemoglobin Hb Tübingen



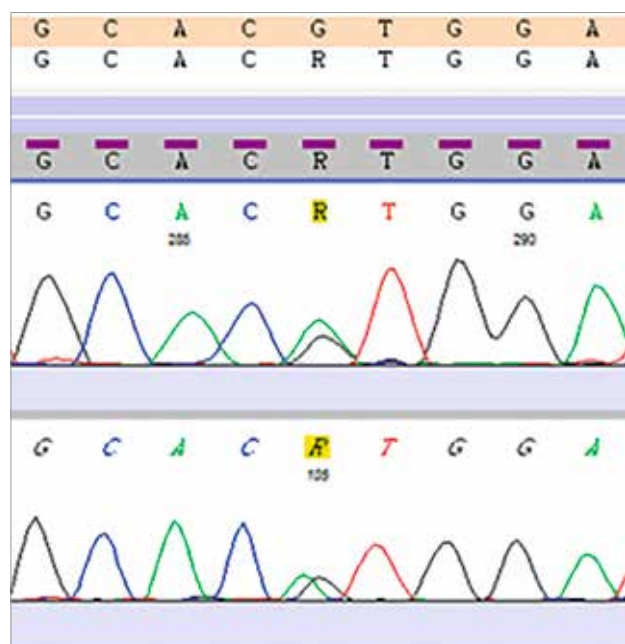
**Рисунок 3**  
НГ Hb Tacoma

Figure 3  
Unstable hemoglobin Hb Tacoma



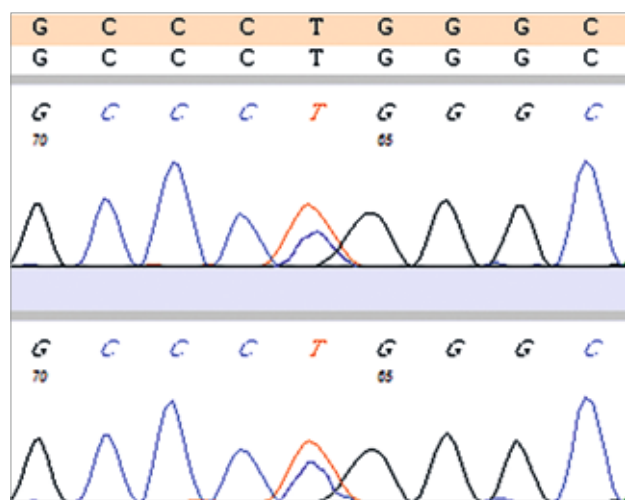
**Рисунок 4**  
НГ Hb Köln

Figure 4  
Unstable hemoglobin Hb Köln



**Рисунок 5**  
НГ Hb Genova

Figure 5  
Unstable hemoglobin Hb Genova

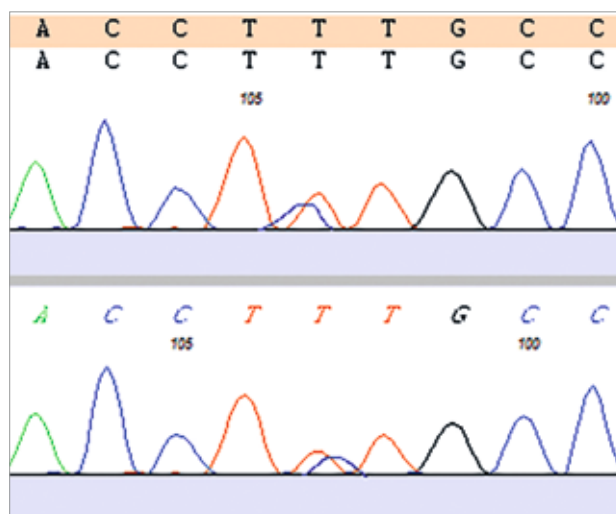


10 лет, с анемией II степени в возрасте 2 лет заболевание дебютировало с тяжелого гемолитического криза, потребовавшего заместительной терапии эритроцитарной взвесью. В гемограмме отмечены анемия I–II степени, выраженный микроцитоз и гипохромия эритроцитов (MVC 51,4 фл, MCH 17,1 пг). По результатам секвенирования диагностировано сочетанное наследование гетерозиготной замены IVS1-1 G>A, приводящей к  $\beta^0$ -талассемии, и гетерозиготной мутации CD30 AGG>AGT (Arg30Ser), обуславливающей Hb Tascoma.

Hb Köln/SanFrancisco (*HBB* CD98 GTG>ATG (Val98Met) диагностирован у 5 пациентов (3 мальчика и 2 девочки) русской национальности. Заболевание у

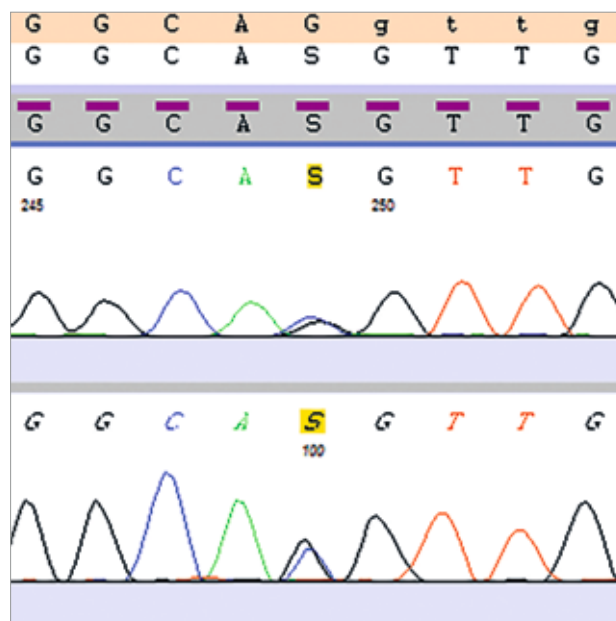
**Рисунок 6**  
НГ Hb Buenos Aires

Figure 6  
Unstable hemoglobin Hb Buenos Aires



**Рисунок 7**  
НГ Hb Monroe

Figure 7  
Unstable hemoglobin Hb Monroe

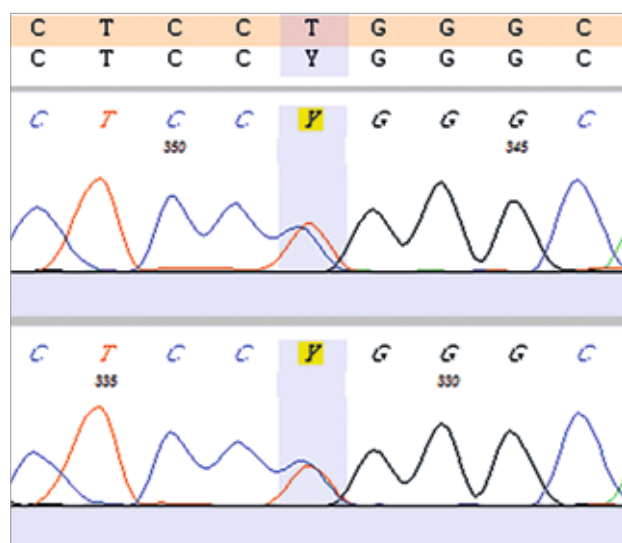


всех детей впервые проявилось спровоцированным гемолитическим кризом (на фоне инфекционного заболевания прием анальгина) в возрасте 6–7 лет (снижение гемоглобина ниже 70 г/л, потребовавшее заместительной трансфузии донорских эритроцитов, иктеричность кожи и слизистых, потемнение мочи, спленомегалия). В межкризовом периоде каких-либо проявлений гемолитической анемии не было.

Hb Cheverly (*HBB* CD45 TTT>TCT (Phe45Ser)) идентифицирован у 3 мальчиков и 1 девочки, этнических русских (2 мальчика и 1 девочка из одной семьи). У всех детей анемия I степени, без кризов и органо-мегалии, в гемограмме – тельца Гейнца и ретикулоцитоз.

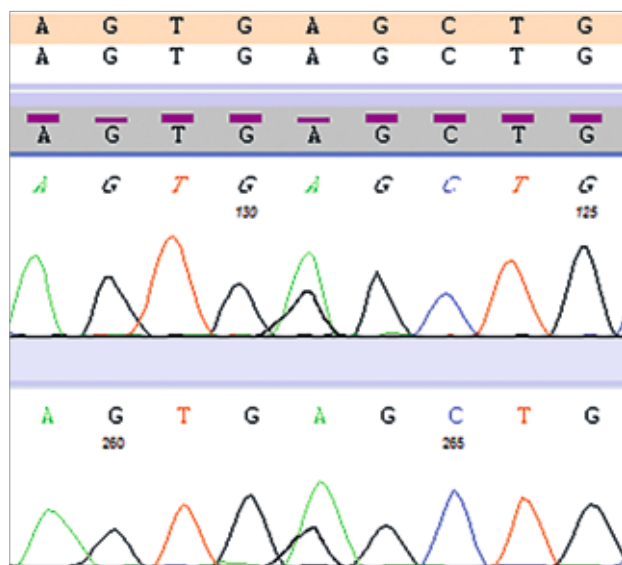
**Рисунок 8**  
НГ Hb Southampton

Figure 8  
Unstable hemoglobin Hb Southampton



**Рисунок 9**  
НГ Hb Roseau-Pointe a Pitre

Figure 9  
Unstable hemoglobin Hb Roseau-Pointe a Pitre



Hb City of Hope (*HBB* CD69 GGT>AGT (Gly69Ser) в нашем исследовании встречался у 3 детей: 1 мальчик (К.А.) – этнический армянин с анемией I степени, впервые выявленной в возрасте 3 лет. В настоящее время у ребенка сохраняется анемия I степени без органомегалии. У 2 пациентов этот НГ выявлен в сочетании с  $\beta$ -талассемией. Анемия была I–II степени, впервые заболевание обнаружено в 1 год 3 месяца у ребенка Х.Е. – этнического русского и в 1 год 8 месяцев у пациента А.А. – этнического армянина.

Hb Southampton/Casper (*HBB* CD 106 CTG>CCG (Leu106Pro)) обнаружен у 3 детей (2 девочки и 1 мальчик). У всех пациентов гемолитическая анемия средней степени тяжести с рождения. Гемоглобин сохраняется в пределах 80–93 г/л. Клинически отме-

чается бледность кожных покровов, гепатоспленомегалия (печень +2 см ниже края реберной дуги, селезенка +6 см ниже края реберной дуги).

Hb M-Hyde Park/Akita/Milwaukee-2 (*HBB* CD92 CAC>TAC (His92Tyr)) выявлен у 2 мальчиков (один – этнический турок, второй – русский) и 1 девочки – этническая русская. У всех детей хронический гемолиз, анемия I степени, цианоз, умеренная органомегалия.

Hb Buenos Aires/Bryn Mawr (*HBB* CD85 TTT>TCT (Phe85Ser)) идентифицирован у 3 этнически русских пациентов (1 девочка и 2 мальчика), обследованных в связи с впервые развившимся тяжелым гемолитическим кризом, потребовавшим заместительной трансфузии эритроцитной взвеси, в возрасте 7, 11 и 13 лет. При дальнейшем наблюдении у детей сохраняются умеренная гепатоспленомегалия и компенсированный гемолиз.

Hb Louisville/București (*HBB* CD42 TTT>CTT (Phe42Leu)) выявлен у 1 этнически русского пациента (мальчик Г.А., 14 лет), который страдает гемолитической анемией II степени с рождения, до 2 лет проведено 5 заместительных трансфузий эритроцитной взвеси, далее трансфузионнонезависим, но сохраняется глубокая гиперрегенераторная анемия (гемоглобин 78 г/л) без органомегалии.

Hb Genova/Hyogo (*HBB* CD28 CTG>CCG (Leu28Pro)) диагностирован у 2 детей (мальчик М.Ю., 14 лет и девочка Б.А., 7 лет). Первые клинические проявления наследственной гемолитической анемии в виде тяжелого гемолитического криза, потребовавшего заместительной терапии донорскими эритроцитами, были в возрасте 4 и 5 лет соответственно. В настоящее время у обоих детей сохраняются анемия I степени и спленомегалия.

Hb Roseau-Pointe a Pitre (*HBB* CD90 GAG>GGG (Glu90Gly)) идентифицирован в 2 случаях (девочка Л.А., 5 лет и мальчик Г.Ф., 5 лет). У пациентки Л.А. впервые признаки заболевания в виде снижения гемоглобина отмечены в 3 месяца, в дальнейшем гемоглобин 100–103 г/л с ретикулоцитозом и повышением активности лактатдегидрогеназы, свидетельствующих о субкомпенсированном гемолизе. У мальчика Г.Ф. клинические симптомы более выражены: начиная с 1 месяца жизни, – бледность, умеренная гепатоспленомегалия, в общем анализе крови гемоглобин 90–95 г/л, гипохромия и микроцитоз эритроцитов (MCH – 70,3 фл, MCV 21,05 пг). При молекулярно-генетическом исследовании у пациента выявлена непротяженная делеция (3.7 kb)  $\alpha$ -глобинового кластера, приводящая к  $\alpha$ -талассемии-2 ( $-\alpha 3.7/\alpha\alpha$ ).

Hb Henri Mondor (*HBB* CD26 GAG>GTG (Gly26Val)) выявлен у 1 девочки (Г.Д.), 12 лет, этническая азербайджанка. Анемия протекает мягко, без кризов, в

настоящее время анемия I степени без органомегалии.

Hb Leiden (Glu6(7)del) зафиксирован у 1 мальчика (Б.И.), 18 лет, этнический русский, впервые в возрасте 3 лет был госпитализирован в связи с гемолитическим кризом, потребовавшим заместительной терапии. В настоящее время сохраняется анемия I–II степени, редкие кризы, больше не требовавшие заместительной терапии, умеренная гепатоспленомегалия, ретикулоцитоз.

Hb Little Venice (*HBB* CD42 TTT>TGT (Phe42Cys)) выявлен у 1 мальчика (С.А.), 11 лет, этнический украинец. Симптомы впервые начались в 9 месяцев. В настоящее время анемия II степени, умеренная органомегалия, незначительная деформация черепа. За 11 лет 4 раза проведена трансфузионная терапия.

Hb Olmsted (*HBB* CD141 CTG>CGG (Leu141Arg)) выявлен у 1 мальчика (Х.И.), 13 лет, этнический грузин. У ребенка с 1,5 года наблюдается хроническая гемолитическая анемия. В настоящее время у пациента анемия I степени, ретикулоцитоз, умеренная гепатоспленомегалия.

Hb Sabine (*HBB* CD91 CTG>CCG (Leu91Pro)) обнаружен у 1 этнически русской пациентки (Ф.И.), 17 лет. Анемия I степени впервые выявлена в возрасте 6 лет при плановой консультации педиатра. В настоящий момент анемия I степени сохраняется, кризов не было, трансфузии не проводились, определяется незначительное увеличение печени и селезенки.

Hb Showa-Yakushiji (*HBB* CD110 CTG>CCG (Leu110Pro)) выявлен у 1 мальчика (А.Ш.), 8 лет, араб. Заболевание началось на первом году жизни, пациент нуждается в заместительной терапии в среднем 1 раз в 2 мес, выраженная органомегалия, иктеричность, деформация черепа.

Hb Terre Haute (*HBB* CD106 CTG>CGG (Leu106Agn)) зафиксирован у 1 девочки (К.М.), 4 года, русская. Анемия I степени с 2 лет, без органомегалии, кризов, костных деформаций.

Hb Tübingen (*HBB* CD106 CTG>CAG (Leu106Gln)) верифицирован у 1 этнически русской пациентки (Б.Г.), 14 лет, которая страдает гемолитической анемией с явлениями цианоза носогубного треугольника с рождения. К 14 годам гемолиз стал носить компенсированный характер, но сохраняются гепатоспленомегалия и цианоз носогубного треугольника.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В нашей когорте пациентов с наследственной гемолитической анемией вследствие НГ по этническому составу преобладали русские (35 из 52 пациентов), в 6 случаях аномальный НГ диагностирован у татар, в 3 – у азербайджанцев, по 2 – у армян и

арабов, по 1 – у молдаван, украинцев, грузин, турков, испанцев.

Выявленные нами формы НГ описаны у пациентов различных национальностей. Так, например, Hb Тасота был обнаружен в североамериканских семьях, в Африке и Японии [3–6]. Клинические признаки у выявленных нами пациентов русской национальности аналогичны ранее описанным и характеризуются гипохромной микроцитарной анемией I–II степени, как правило, не требующей проведения заместительной терапии. В нашей когорте пациентов отмечено сочетанное наследование аномального НГ Hb Тасота с  $\beta$ -талассемической мутацией, что сопровождалось утяжелением клинической картины.

Гемоглобинопатия Köln – наиболее распространенная наследственная гемолитическая анемия, обусловленная носительством НГ, которая встречается в основном в Европе и США. Описаны единичные случаи в Китае, Индии, России [7–12]. Выявленные нами 2 неродственных случая носительства Hb Köln характеризовались относительно мягким течением заболевания в виде спровоцированных гемолитических кризов, что, согласно литературным данным, наиболее часто встречается в мире.

Hb Монгое/Kairouan, впервые идентифицированный в США, позже описан у пациентов в Индии, Бангладеш, Малайзии, ОАЭ, Тунисе, Иране и Таджикистане [13–21]. В нашей когорте пациентов Hb Монгое выявлен в 2 неродственных семьях (русские и крымские татары). Случай сонаследования с  $\beta$ -талассемической мутацией интересен также феноменом расположения 2 глобиновых аномалий на 1 хромосоме: компаунд-гетерозиготное наследование 2 глобиновых аномалий выявлено также у отца ребенка (крымский татарин), в то время как у матери каких бы то ни было глобиновых аномалий не обнаружено.

Hb Roseau-Pointe a Pitre является очень редкой формой. В международной литературе описан 1 случай с этим вариантом гемоглобина – новорожденный из Доминиканской Республики [22]. Мы представили еще 2 случая этого редкого варианта НГ. У одного пациента русской национальности клинические проявления схожи с ранее описанным случаем, у другого – выявлено сочетанное наследование аномального НГ с  $\alpha$ -талассемией ( $-\alpha 3.7/\alpha\alpha$ ), что привело к увеличению пропорции НГ в эритроцитах и более тяжелым клиническим проявлениям.

Носителями НГ Hb Southampton/Casper являются единичные пациенты из США, Аргентины, Китая и Уругвая [23–26]. В нашем исследовании Hb Southampton/Casper диагностирован в 2 неродственных случаях у пациенток русской национальности, страдающих гемолитической анемией средней степени тяжести с раннего возраста.



Hb Genova/Нуого выявлен у пациентов из Канады, Европы, Индии, Африки, Японии и Кубы [27–32]. Наш случай носительства этого аномального НГ у русского пациента по своей клинической картине не отличается от ранее описанных лиц других национальностей.

Hb Buenos Aires (Bryn Mawr) встречается в США, Канаде, Японии и Камбодже [33–36]. Ранее описанные случаи Hb Buenos Aires отмечены у выходцев из Азии, проживающих в разных странах мира, в нашем случае этот аномальный НГ выявлен у пациентов русской национальности.

Вариант НГ Hb Louisville (București) выявлен в Таиланде, странах Европы, Канаде и Америке, а также у кавказцев [37–42].

Hb Cheverly описан у народов Кавказа и Италии. В нашем исследовании все пациенты были этническими русскими.

Hb City of Hope описан в литературе у жителей Кавказа, Италии, Турции, а также в еврейских семьях. У нас в исследовании было 2 этнических армянина и 1 ребенок этнический русский.

Hb Tübingen описан в литературе у жителей Бельгии и Германии [43]. Ребенок в нашем исследовании был русским.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

НГ – редкая патология, необходимо ведение регистра данных пациентов для изучения особенностей течения заболевания и уточнения списка глобиновых аномалий, что позволит улучшить диагностику, в том числе и раннюю.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

## ORCID

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

**Sokolova N.E.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1021-7348>

**Krasilnikova M.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0929-4792>

**Litvin E.A.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6331-5339>

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

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

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

**Smetanina N.S.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2756-7325>

## Литература

- ВОЗ: Исполнительный комитет, 118-я сессия. Талассемия и другие гемоглобинопатии: доклад Секретариата. Женева; 2006.
- Гемоглобинопатии и талассемические синдромы. Под ред. Румянцев А.Г., Токарева Ю.Н., Сметаниной Н.С. М.: Практическая медицина; 2015. 448 с. С. 274–279.
- Landin B., Jeppsson J.O. Rare Beta Chain Hemoglobin Variants Found in Swedish Patients During HBA1c Analysis. *Hemoglobin* 1993; 17 (4): 303–18.
- Sangkitporn S.K., Eksiri L., Sangnoi A., Duangruang S., Dumbua A., Rat-tanakittisophon K., et al. Identification of  $\beta$ -globin gene mutations in Thailand using an automated fluorescence-based DNA sequencer. *Int J Lab Hematol* 2009; 31 (5): 521–7.
- Harano K., Harano T., Ueda S., Mori H., Shibata S., Takeda I., et al. Hb Tacoma [Beta30(B12)Arg→Ser], a Slightly Unstable Hemoglobin Variant Found in Japan. *Hemoglobin* 1985; 9 (6): 635–9.
- Landin B., Alvelius G., Rai D.K., Elinder G. Compound Heterozygosity for Hb Tacoma [ $\beta$ 30(B12)Arg→Ser] and  $\beta^+$ -Thalassemia. *Hemoglobin* 2000; 24 (3): 253–7.
- Warang P., Nair S., Nadkarni A., Kedar P., Bhav A., Ghosh K., et al. Hb Köln [ $\beta$ 98(FG5) [GTG→ATG, Val→Met]: The First Report From India. *Hematology* 2014; 19 (4): 199–201.
- Mittal N., Garg A., Kashyap R., Agarwal S. A Case of Compound Heterozygous Hemoglobin Köln/hemoglobin E in an Indian Family. *Pediatr Hematol Oncol* 2019; 36 (6): 394–8.
- Li Y.-Q., Ye L.-H., Mo Y. Detection of the Unstable Hb Köln (HBB: c.295G>A) by a Capillary Electrophoresis Method. *Hemoglobin* 2016; 40 (6): 417–9.
- Carrell R.W., Lehmann H., Hutchison H.E. Haemoglobin Köln (beta-98 valine-methionine): an unstable protein causing inclusion-body anaemia. *Nature* 1966; 210 (5039): 915–6.
- Ricco G., Ravazzolo R., Rege-Cambrin G., Capaldi A., Trento M., Lecchi M., et al. Köln haemoglobinopathy in Italy. *Panminerva Med* 1981; 23 (4): 227–33.
- Сметанина Н.С., Жесткова Н.М., Молчанова Т.П., Токарев Ю.Н. Гемоглобинопатия Köln: трое больных в одной русской семье. *Терапевтический архив* 1993; 65(7): 45–8.
- El-Kalla S., Mathews A.R. A Significant Beta-Thalassemia Heterogeneity in the United Arab Emirates. *Hemoglobin* 1997; 21 (3): 237–47.
- Teh L.K., George E., Lai M.I., Ai J., Tan M.A., Wong L., et al. Molecular Basis of Transfusion Dependent Beta-Thalassemia Major Patients in Sabah. *J Hum Genet* 2014; 59 (3): 119–23.
- Moosa M.M., Ayub M.I., Bashir A.E., Sarwardi G., Khan W., Khan H., et al. Combination of Two Rare Mutations Causes  $\beta$ -Thalassaemia in a Bangladeshi Patient. *Genet Mol Biol* 2011; 34 (3): 406–9.
- Sweeting I., Serjeant B.E., Serjeant G.R., Kulozik A.E., Vetter B. Short Communication: HB S-HB Monroe; a Sickle Cell- $\beta$ -Thalassemia Syndrome. *Hemoglobin* 1998; 22 (2): 153–6.
- Gonzalez-Redondo J.M., Stoming T.A., Lanclos K.D., Gu Y.C., Kutlar A., Kutlar F., et al. Clinical and genetic heterogeneity in black patients with homozygous beta-thalassemia from the southeastern United States. *Blood* 1988; 72: 1007–14.
- Varawalla N.Y., Old J.M., Sarkar R., Venkatesan R., Weatherall D.J. The spectrum of beta-thalassaemia mutations on the Indian subcontinent:

- The basis for prenatal diagnosis. *Br J Haematol* 1991; 78: 242–7.
19. Fattoum S., Guemira F., Oner C., Oner R., Li H.W., Kutlar F., et al. Beta-thalassemia, Hb S-beta-thalassemia, and sickle cell anemia among Tunisians. *Hemoglobin* 1991; 15: 11–21.
  20. Fedorov A.N., Nasyrova F., Smirnova E.A., Bocharova T.N., Limborska S.A. IVS-I-1 (G>C) in combination with -42 (C>G) in the promoter region of the beta-globin gene in patients from Tajikistan. *Hemoglobin* 1993; 17: 275–8.
  21. Sarookhani M.R., Ahmadi M.H. Rare and unexpected beta-thalassemic mutations in Qazvin Province of Iran. *African J Biotech* 2010; 9: 95–101.
  22. Merault G., Keclard L., Saint-Martin C., Jasmin K., Campier A., Delanoe-Garin J., et al. Hemoglobin Roseau-Pointe a Pitre  $\alpha 2\beta 290$  (F6) Glu→Gly: a new hemoglobin variant with slight instability and low oxygen affinity. *FEBS Lett* 1985; 184 (1): 10–3.
  23. Liu J., Huang Y., Lei Y., Lai Y. Hb Southampton [ $\beta 106$ (G8)Leu→Pro; *HBB*: c.320T>C] and Codons 41/42 (-TTCT; *HBB*: c.124\_127del(TTCT)) in a Chinese Girl. *Hemoglobin* 2017; 41 (2): 134–6.
  24. Gómez V.A., Eberle S.E., Pepe C., Sciuccati G., Rosolen N.G., Cervio C., et al. Severe Hemolytic Anemia Due to Hemoglobin Southampton: Case Report. *Arch Argent Pediatr* 2012; 110 (5): e91–4.
  25. Heintz N.H., Howard P.L. Hemoglobin Southampton (Casper): Characterization of the Base Mutation. *Am J Hematol* 1989; 30 (1): 1–3.
  26. Da Luz Pereira J.A., López P., Costa F.F., Sans M., de Fatima Sonati M. Hb Southampton [ $\beta 106$ (G8) Leu→PRO, CTG→CCG] in a Uruguayan Woman. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2013; 35 (2): 146–7.
  27. Wada Y., Hayashi A., Fujita T., Matsuo T., Katakuse I., Matsuda H. Structural Analysis of Human Hemoglobin Variants With Field Desorption Mass Spectrometry. *Biochim Biophys Acta* 1981; 667 (2): 233–41.
  28. Wong S.C., Ali M.A., Pai M., Barr R.D. A new case of the unstable haemoglobin Genova (Alpha 2 Beta 2 28 (Beta 10) leu leads to pro) in Canada: as a result of sporadic mutation and causing Heinz body haemolytic anaemia. *Acta Haematol* 1980; 63 (4): 222–5.
  29. Solal M.C., Labie D. A New Case of Hemoglobin Genova  $\alpha 2\beta 28$ (B10) Leu leads to Pro. Further Studies on the Mechanism of Instability and Defective Synthesis. *Biochim Biophys Acta* 1973; 295 (1): 67–76.
  30. Hopmeier P., Binder C., Gadner H., Fischer M. A case of the unstable Hb Genova (beta 28 Leu>Pro) in an Arab child associated with severe hemolytic anaemia and growth retardation. *Acta Haematol* 1990; 83 (1): 39–41.
  31. Martínez G., Carnot J., Hernández P. Hb Genova in a Cuban family. Clinical differences between carriers. *Hemoglobin* 1983; 7 (6): 591–4.
  32. Kendall A., Young S., Oune N., Wiltshire B., Lehmann H. The unstable Hb Genova (beta 28Leu replaced by Pro) in an East African Family. Family study and the effect of splenectomy. *Acta Haematol* 1979; 61 (5): 278–82.
  33. Nabhani I.A., Aneke J.C., Verhovsek M., Eng B., Kuo K.H., Rudinskas L.C., et al. Novel High Oxygen Affinity Hemoglobin Variant in a Patient With Polycythemia: Hb Kenosis [ $\beta 85$ (F1)Phe→Leu (TT T>TT G); *HBB*: c.258T>G]. *Hemoglobin* 2020; 44 (1): 10–2.
  34. Larson P.J., Friedman D.F., Reilly M.P., Kattamis A.C., Asakura T., Fortina P., et al. The presurgical management with erythrocytapheresis of a patient with a high-oxygen-affinity, unstable Hb variant (Hb Bryn Mawr). *Transfusion* 1997; 37 (7): 703–7.
  35. Hiratake S., Komada Y., Ito M., Azuma E., Sakurai M., Harano T. The First Case in Japan of Unstable Hemoglobin, Hb Buenos Aires [Beta 85 (F1) Phe>Ser], With Parvovirus B19 Infection (First Case in Japan). *Rinsho Ketsueki* 1995; 36 (12): 1342–6.
  36. De Weinstein B.I., White J.M., Wiltshire B.G., Lehmann H. a new unstable haemoglobin: Hb Buenos Aires, beta 85 (F1) Phe leads to Ser. *Acta Haematol* 1973; 50 (6): 357–63.
  37. Kamseng P., Trakulsrichai S., Trachoo O., Yimniam W., Panthan B., Jit-torntam P., et al. Low Oxygen Saturation and Severe Anemia in Compound Heterozygous Hb Louisville [ $\beta 42$ (CD1) Phe→Leu] and Hb La Desirade [ $\beta 129$ (H7)Ala→Val]. *Hematology* 2017; 22 (2): 114–8.
  38. Keeling M.M., Ogden L.L., Wrightstone R.N., Wilson J.B., Reynolds C.A., Kitchens J.L., et al. Hemoglobin Louisville (beta-42 (CD1) Phe-Leu): An Unstable Variant Causing Mild Hemolytic Anemia. *J Clin Invest* 1971; 50 (11): 2395–402.
  39. Wu Y., Ramani G.V., Gai Q., Lemon L.C., Baer M.R. Rare hemoglobinopathy presenting as progressive dyspnea. *Am J Hematol* 2010; 85 (5): 355–7.
  40. Lorenzo-Medina M., de la Iglesia S., Ruiz-García L., Quintana-Hidalgo L., Martín-Alfaro R., Herrada J. Pitfalls of glycated hemoglobin in the glycemic assessment of diabetes patients with hemoglobin Louisville: role of serum fructosamine. *J Diabetes Sci Technol* 2013; 7 (3): 804–5.
  41. Von Planta M., Humbert J., Wacker P., Rimensberger P.C., Darbellay R., Roosnek E., et al. Hypothesis for generation of the unstable Hb Bucuresti (beta 42 Phe→Leu) mutation. *Hematol J* 2001; 2 (1): 61–6.
  42. Smiley R.K., Gravely M.E., Wilson J.B., Huisman T.J.H. Hemoglobin Louisville (beta 42 (CD1) phenylalanine replaced by leucine) occurring as a fresh mutation in a Canadian woman. *Hemoglobin* 1978; 2 (1): 89–90.
  43. Philippe M., Larondelle Y., Vaerman J.L., Martiat P., Galacteros F., Wajcman H., Lambert M. Hb Tübingen [ $\alpha 2 \beta 2$ (2)106(G8)Leu→Gln] in a Belgian Family. *Hemoglobin* 1993; 17 (4): 373–8. DOI: 10.3109/03630269308997490

# Assessment of serum neopterin and kynurenine levels in Egyptian children with sickle cell disease: a single center study

M.A. El-Hawy, H.M. Bedair, A.M.Y.M. Madkour, S.M.T. Moussa, A.A. Mahmoud

Menoufia University, Shebin El-Kom, Egypt

## Correspondence:

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

Neopterin, a guanosine triphosphate metabolite, is an indicator for cell-mediated immunity. Kynurenine performs a variety of biological functions, such as the dilation of blood vessels in response to inflammation and the regulation of immune response. Objectives: to assess serum neopterin and kynurenine levels in Egyptian children with sickle cell disease (SCD). In our case-control study, we included 40 children aged 2–18 years with SCD treated at the Hematology Unit of the Department of Pediatrics, Menoufia University Hospital and 40 healthy controls matched on age, sex, and socio-economic status. The study was approved by the Institutional Review Board (IRB) of the Menoufia Faculty of Medicine. We obtained comprehensive health history data of the study participants and performed necessary clinical examinations and tests including complete blood count, serum ferritin, and hemoglobin electrophoresis. Serum neopterin and kynurenine concentrations were measured using enzyme-linked immunosorbent assay. In the patients with SCD, serum neopterin and kynurenine levels were significantly higher during vaso-occlusive crisis than in a steady state, and much higher than in the controls ( $p < 0.001$ ). There was a significant positive correlation between serum neopterin concentrations and mean corpuscular hemoglobin levels, platelets, HbF, HbS, and HbA2, and a significant negative correlation between serum neopterin levels and height, Hb, hematocrit and HbA1. We also observed a significant positive correlation between serum kynurenine and body mass index, HbA2, HbF, HbS, and platelets and a significant negative correlation between serum kynurenine and hemoglobin, hematocrit and HbA1. The cases were shown to have higher neopterin and kynurenine levels than the controls. The concentrations of neopterin and kynurenine were higher in the patients during vaso-occlusive crises than in a steady state.

**Key words:** serum neopterin, kynurenine, sickle cell disease, pediatrics

El-Hawy M.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (3): 22–27.

DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-22-27

**S**ickle cell disease (SCD) is a hereditary condition caused by a point mutation in the beta-globin gene coding for hemoglobin subunit beta. This mutation causes an amino acid change from glutamic acid to valine, which results in sickle hemoglobin (HbS) [1].

The primary pathophysiological basis of SCD is the polymerization of HbS in the cytoplasm of red blood cells (RBCs). In addition to its physical effects on cellular structure, the polymerization of HbS causes several biochemical, cellular and physiological pathologies, which are related to a variety of clinical complications including reticulocytosis, painful vaso-occlusive crises (VOC), and end organ damage due to persistent tissue hypoxia [2]. Patients with SCD are subjected to oxidative stress due to a persistent state of inflammation in the circulation. Hypoferremia in SCD patients can be caused by various mechanisms, such as increased iron use during the differentiation and proliferation of immune cells and the stimulation of ferritin synthesis by interleukin-1, and interleukin-6, and tumor necrosis factor- $\alpha$ , which leads to a decrease in circulating iron [3].

Neopterin and its related compound biopterin are pteridine molecules containing a 2-amino, 4-oxo, pyrimidino-pyrazino-(pterin) ring with a 3-carbon side-

chain on carbon 6. Pteridines were first described as pigments of insects and low vertebrates [4]. Monocytes/macrophages produce neopterin in response to endotoxins, as well as pro-inflammatory cytokine interferon ( $\text{IFN-}\gamma$ ), and other cytokine [5]. Neopterin, a guanosine triphosphate metabolite, is a marker for cell-mediated immunity [6]. It was reported that neopterin concentrations are elevated in patients with inflammatory conditions including parasitic, viral and bacterial disease [7].

A balance between pro- and anti-inflammatory immune components is critical for effective host defense. A disruption of this balance can result in either an extreme immune reaction or suppression of the immune response, both of which can be life-threatening. The degradation of tryptophan (TRP) through the kynurenine (KYN) pathway is critical in the regulation of immune response. This pathway shows a major association between the immune and nervous systems [8].

L-KYN is a product of the metabolism of the amino acid L-TRP that is necessary for the synthesis of niacin. KYN is synthesized by the enzyme TRP dioxygenase, which is produced mainly in the liver, and indoleamine 2, 3-dioxygenase, which is expressed in many tissues in response to immune activation. KYN and its degradation products perform a variety of biological functions,

including the dilation of blood vessels in response to inflammation and the regulation of immune response. Certain cancers produce more KYN, which promotes tumor growth [9]. Cognitive deficits in schizophrenia are associated with imbalances in the enzymes that break down KYN [10].

So, we aimed to assess serum neopterin and KYN levels in patients with SCD.

## MATERIALS AND METHODS

### Design

For our case-control study, we enrolled 40 children aged 2–18 years with SCD, and 40 healthy controls matched on sex and age. The cases were enrolled from the Hematology Unit of Menoufia University Hospital. The study was approved by the Institutional Review Board (IRB) of the Menoufia Faculty of Medicine.

Patients with chronic cardiac, renal, vascular diseases, and malignancies were excluded from this study.

We collected health history data (sex, age, duration of illness, the frequency of blood transfusions, type of chelation therapy, and history of splenectomy). All the study subjects underwent comprehensive clinical examinations and anthropometric assessments.

### Methods

We obtained 7 mL of venous blood from each participant. Two mL of blood was collected into an EDTA tube for complete blood count analysis using Sysmex XT-1800i Automated Hematology Analyzer (Sysmex, Japan). Four mL was collected into 2 plain tubes and allowed to clot at 37°C, then centrifuged at 4000 rpm for 10 minutes and preserved at –80°C for the assessment of serum AST, ALT, urea, creatinine and ferritin levels using Cobas e501 Auto Analyzer (Roche-Germany). Serum neopterin and KYN levels were measured using commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) Kits (Bioneovan Co., Ltd, Beijing, China). Hemoglobin electrophoresis results were obtained from the patient's medical files.

### Procedure

Samples were diluted with standard dilution buffer and 10 wells were set as standards. After dilution, the total volume in all the wells was 50 µL, and the concentrations were 90 pmol/mL, 60 pmol/mL, 30 pmol/mL, 15 pmol/mL, and 7.5 pmol/mL, respectively. In a Micro ELISA strip plate, we left an empty well as a blank control. We added 40 µL of sample dilution buffer and 10 µL of sample to the sample wells (the dilution factor was 5). Samples were loaded to the bottom of the well without touching the well walls and then gently shook to combine. Incubation: The wells were covered with

closure plate membrane and incubated for 30 minutes at 37°C. Washing: We peeled off the closure plate membrane carefully, aspirated, and refilled with wash solution. After 30 s, the wash solution was discarded. The washing procedure was repeated 5 times. We added 50 µL of HRP-Conjugate reagent into each well (except the blank control well) and then performed incubation and washing steps. Coloring: We added 50 µL of chromogen solution A and 50 µL of chromogen solution B to each well, gently shook, and incubated at 37°C for 15 min. Termination: To terminate the reaction, we added 50 µL of stop solution to each well. The color in each well changed from blue to yellow. Finally, using a Microtiter Plate Reader, we determined the absorbance of O.D. at 450 nm within 15 min after adding the stop solution.

### Sample size calculation

According to Sabuncuoğlu et. al 2020 [4], KYN concentrations in children with SCD are significantly higher than in healthy controls. In his study, the KYN/TRP ratio was  $32.77 \pm 6.19$  and  $45.14 \pm 5.54$  in the controls and cases, respectively. The sample size in our study was calculated to be 80 subjects (40 for each group), with a power of 80%, alpha error of 0.05, and case-control ratio 1:1.

### Statistical analysis

The data were analyzed using the IBM SPSS version 22.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). Chi-square test was used to determine the relationship between qualitative factors. The Student T-test was used to compare two groups of quantitative data. Pearson's correlation coefficient was used to examine the relationship between normally distributed continuous variables. The one-way ANOVA F-test was used to compare groups with more than two quantitative variables and independent parametric data. Results were considered significant if the p-value was 0.05 or lower.

## RESULTS

As regards the demographic information, the rate of consanguinity was significantly higher in the group of interest compared with the controls but there was no significant difference between the groups regarding sex, age, height, and BMI, as can be seen in (table 1).

There was a highly significant difference in both serum neopterin and KYN levels between the subjects with SCD in a steady state and during VOC and the controls. Both serum neopterin and KYN levels were significantly higher during VOC than in a steady state (table 2).

A transcranial Doppler ultrasound (TCD) and echocardiography were performed in the cases and the controls, and the obtained results were compared. The results of TCD in the group of interest were found to

be statistically highly significant as the majority of the SCD patients (67.5%) had conditional velocities, 20% of the patients had normal findings, and 12.5% of the patients were considered high-risk, while all controls had normal TCD results. However, echocardiography results turned out to be normal in both groups (table 3).

There was a highly significant correlation between serum neopterin levels and TCD results in the group of interest, but we did not find any significant correlation between serum KYN levels and TCD results in this group. The correlation between serum neopterin and KYN levels and demographic and clinical data of the SCD patients was non-significant (table 4).

There was a significant positive correlation between serum neopterin levels and mean corpuscular hemoglobin (MCH), platelets, HbF, HbS, HbA2 and AST; and a significant negative correlation between serum neopterin levels and the patients' height, Hb, HCT and HbA1. Serum KYN levels had a significant positive correlation with BMI, HbA2, HbF, HbS, MCV, MCH and platelets; and a significant negative correlation with Hb, HCT and HbA1 (table 5).

**Table 1**  
Socio-demographic data of the study subjects

| Variables                                              | Cases (n = 40)                              | Controls (n = 40)                         | Test of sig.     | p-value     |
|--------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------------------|------------------|-------------|
| Age, years:<br>mean $\pm$ SD<br>range<br>median<br>IQR | 10.1 $\pm$ 4.5<br>2–18<br>9<br>7–13         | 8.9 $\pm$ 4.1<br>3–17<br>9<br>4–11        | U<br>1.52        | 0.128<br>NS |
| Sex:<br>male<br>female                                 | 23 (57.5%)<br>17 (42.5%)                    | 19 (47.5%)<br>21 (52.5%)                  | $\chi^2$<br>0.82 | 0.370<br>NS |
| Consanguinity:<br>yes<br>no                            | 23 (57.5%)<br>17 (42.5%)                    | 12 (30%)<br>28 (70%)                      | $\chi^2$<br>6.14 | 0.013<br>S  |
| Weight, kg:<br>mean $\pm$ SD<br>range<br>median<br>IQR | 29.4 $\pm$ 12.7<br>11–60<br>25.5<br>20–36.5 | 30.1 $\pm$ 11.3<br>15–65<br>29<br>20–37.8 | U<br>0.506       | 0.613<br>NS |
| Height, cm:<br>mean $\pm$ SD<br>range<br>median        | 130.1 $\pm$ 23.4<br>85–176<br>129           | 135.1 $\pm$ 17.2<br>108–165<br>131        | T<br>1.11        | 0.269<br>NS |
| BMI, %:<br>mean $\pm$ SD<br>range<br>median            | 16.9 $\pm$ 2.5<br>12–24<br>16.5             | 16.1 $\pm$ 2.6<br>12–24<br>16.03          | T<br>1.50        | 0.137<br>NS |

Note. SD – standard deviation; T – Student's T-test;  $\chi^2$  – Chi-square test; U – Mann-Whitney test; NS – non-significant difference; S – significant difference.

**Table 2**  
Serum neopterin and KYN concentrations in the study subjects

| Parameter                                                    | Cases in VOC (n = 40)                      | Cases in a steady state (n = 40)          | Controls (n = 40)                        | Test of sig.                         | p-value                                   |
|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------------|
| Serum neopterin, nmol/L:<br>mean $\pm$ SD<br>range<br>median | 7.83 $\pm$ 2.45<br>5.72–10.20<br>7.92      | 5.64 $\pm$ 1.36<br>4.35–7.92<br>5.78      | 2.90 $\pm$ 0.78<br>1.87–3.77<br>2.99     | T1 = 6.09<br>T2 = 9.58<br>T3 = 14.63 | p1 < 0.001*<br>p2 < 0.001*<br>p3 < 0.001* |
| Serum KYN, nmol/L:<br>mean $\pm$ SD<br>range<br>median       | 815.2 $\pm$ 289.1<br>414.2–1203.1<br>832.2 | 445.2 $\pm$ 129.1<br>311.2–603.1<br>498.7 | 278.5 $\pm$ 59.5<br>223.1–474.1<br>250.6 | T1 = 4.68<br>T2 = 14.61<br>T3 = 5.43 | p1 < 0.001*<br>p2 < 0.001*<br>p3 < 0.001* |

Note. SD – standard deviation; T – Student's T-test; \* – highly significant difference; p1 – patients in a steady state versus patients in VOC; p2 – patients in a steady state versus controls; p3 – patients in VOC versus controls.

## DISCUSSION

Sickle cell anemia is one of the most prevalent single-gene disorders in humans, with a wide geographic distribution and various clinical presentations. In SCD, HbS replaces HbA in erythrocytes (RBCs). It is a common cause of chronic anemia in children of African ancestry. The disorder is characterized by chronic hemolysis, increased bone marrow activity and the theoretical probability of abnormal red cell indices [11].

In our study, we discovered a highly significant difference in consanguinity between the group of interest and the control group, but there was no significant difference between the groups regarding age, sex, height and BMI. A family history of consanguinity was linked to SCD and was higher in the existing literature [12].

There was a highly significant difference in serum neopterin and KYN levels between the subjects with SCD in a steady state and during VOC and the controls. Both serum neopterin and KYN levels were significantly higher during VOC than in a steady state.

Rodrigues et al. [12] reported significantly elevated serum neopterin levels in HbSS and HbSC cases compared with the controls. Sabuncuoğlu et al. [4] found that serum neopterin was substantially higher in the affected patients than in the healthy controls. Urinary neopterin concentrations were also significantly higher in the group of interest than in the controls. In this study, TRP and KYN levels were determined and the KYN/TRP ratio was calculated to enable the estimation of IDO activity. The KYN/TRP ratio and

**Table 3**  
The results of TCD and echocardiography in the study subjects

| Parameter                  | Cases (n = 40) |      | Controls (n = 40) |     | Test of sig. | p-value       |
|----------------------------|----------------|------|-------------------|-----|--------------|---------------|
|                            | n              | %    | n                 | %   |              |               |
| TCD:                       |                |      |                   |     |              |               |
| normal ( $\leq$ 170 cm/s)  | 8              | 20   | 40                | 100 | FET          | < 0.001<br>HS |
| conditional (170–199 cm/s) | 27             | 67.5 | 0                 | 0   |              |               |
| high-risk ( $>$ 200 cm/s)  | 5              | 12.5 | 0                 | 0   | 61.2         |               |
| Echocardiography:          |                |      |                   |     |              |               |
| normal                     | 40             | 100  | 40                | 100 | Normal       | Normal        |

Note. FET – Fisher's exact test; HS – highly significant.



Table 4

The relationship between serum neopterin and KYN levels and demographic and clinical data of the cases

| Parameter                       | Serum neopterin<br>nmol/L (mean $\pm$ SD) | Test of sign. | p-value | Serum KYN<br>nmol/L (mean $\pm$ SD) | Test of sign. | p-value |
|---------------------------------|-------------------------------------------|---------------|---------|-------------------------------------|---------------|---------|
| Sex:                            |                                           | U             |         |                                     | T             |         |
| male                            | 4.8 $\pm$ 2.2                             |               | 0.920   | 814.5 $\pm$ 185.8                   |               | 0.978   |
| female                          | 4.8 $\pm$ 2.3                             | 1.00          | NS      | 816.2 $\pm$ 199.2                   | 0.028         | NS      |
| Consanguinity:                  |                                           | U             |         |                                     | T             |         |
| yes                             | 5.4 $\pm$ 2.3                             |               | 0.053   | 804.9 $\pm$ 158.7                   |               | 0.712   |
| no                              | 4.3 $\pm$ 2.1                             | 1.9           | S       | 829.1 $\pm$ 228.4                   | 0.373         | NS      |
| Pallor:                         |                                           | T             |         |                                     | T             |         |
| yes                             | 7.02 $\pm$ 1.5                            |               | 0.515   | 767.5 $\pm$ 178.1                   |               | 0.148   |
| no                              | 6.6 $\pm$ 1.4                             | 0.659         | NS      | 854.2 $\pm$ 192.9                   | 1.47          | NS      |
| Jaundice:                       |                                           | T             |         |                                     | T             |         |
| yes                             | 7.2 $\pm$ 1.4                             |               | 0.216   | 822.2 $\pm$ 227.1                   |               | 0.878   |
| no                              | 6.5 $\pm$ 1.4                             | 1.27          | NS      | 811.4 $\pm$ 170.2                   | 0.156         | NS      |
| Splenomegaly:                   |                                           | T             |         |                                     | T             |         |
| yes                             | 6.7 $\pm$ 1.2                             |               | 0.570   | 824.8 $\pm$ 190.4                   |               | 0.700   |
| no                              | 7.1 $\pm$ 1.7                             | 0.575         | NS      | 800.8 $\pm$ 192.4                   | 0.388         | NS      |
| Splenectomy:                    |                                           | T             |         |                                     | T             |         |
| yes                             | 7.3 $\pm$ 1.7                             |               | 0.270   | 842.9 $\pm$ 211.3                   |               | 0.603   |
| no                              | 6.6 $\pm$ 1.9                             | 1.15          | NS      | 804.7 $\pm$ 182.9                   | 0.530         | NS      |
| Type of crisis:                 |                                           | F             |         |                                     | F             |         |
| hemolytic crisis                | 6.1 $\pm$ 1.9                             |               | 0.186   | 820.6 $\pm$ 240.1                   |               | 0.512   |
| VOC                             | 10.1                                      | 1.65          | NS      | 888.5 $\pm$ 106.3                   | 0.836         | NS      |
| Hydroxyurea:                    |                                           | T             |         |                                     | T             |         |
| yes                             | 6.8 $\pm$ 1.6                             |               | 0.822   | 803.6 $\pm$ 195.8                   |               | 0.616   |
| no                              | 6.7 $\pm$ 1.1                             | 0.227         | NS      | 834.5 $\pm$ 180.4                   | 0.507         | NS      |
| Iron chelator<br>(deferasirox): |                                           | T             |         |                                     | T             |         |
| yes                             | 6.8 $\pm$ 1.5                             |               | 0.961   | 785.2 $\pm$ 159.8                   |               | 0.290   |
| no                              | 6.8 $\pm$ 1.4                             | 0.049         | NS      | 851.8 $\pm$ 218.8                   | 1.07          | NS      |
| TCD:                            |                                           | K             |         |                                     | F             |         |
| normal                          | 3.4 $\pm$ 1.56                            |               | < 0.001 | 768.8 $\pm$ 199.6                   |               | 0.747   |
| conditional                     | 6.9 $\pm$ 1.50                            |               | HS      | 828.1 $\pm$ 200.9                   |               | NS      |
| high risk                       | 6.4 $\pm$ 1.51                            | 38.1          |         | 819.5 $\pm$ 105.7                   | 0.294         |         |

Note. SD – standard deviation; T – Student's T-test; F – one-way ANOVA test; K – the Kruskal–Wallis test; NS – non-significant; S – significant; HS – highly significant.

Table 5

A correlation between serum neopterin concentrations and demographic and laboratory data of the cases

| Parameter                                   | Serum neopterin, nmol/L |           | Serum KYN, nmol/L |           |
|---------------------------------------------|-------------------------|-----------|-------------------|-----------|
|                                             | r                       | p-value   | r                 | p-value   |
| Age, years                                  | 0.002                   | 0.989     | 0.184             | 0.103     |
| Weight, kg                                  | –0.178                  | 0.140     | 0.011             | 0.920     |
| Height, cm                                  | –0.286                  | 0.017*    | –0.062            | 0.587     |
| BMI, %                                      | 0.035                   | 0.774     | 0.220             | 0.050*    |
| Crises per year                             | –0.024                  | 0.832     | 0.084             | 0.605     |
| Pain episodes per year                      | 0.00                    | 1.00      | 0.082             | 0.612     |
| Dose of hydroxyurea, mg/kg/day              | –0.024                  | 0.892     | 0.017             | 0.919     |
| Dose of the chelating agent                 | 0.094                   | 0.590     | –0.062            | 0.707     |
| Transfusion index per year, mL/kg/year      | 0.041                   | 0.817     | –0.059            | 0.721     |
| Hb, gm/dL                                   | –0.692                  | < 0.001** | –0.647            | < 0.001** |
| HCT, %                                      | –0.348                  | 0.004*    | –0.316            | 0.004*    |
| MCV, fL                                     | 0.090                   | 0.450     | 0.272             | 0.015*    |
| MCH, pg                                     | 0.302                   | 0.011*    | 0.529             | < 0.001** |
| Platelets, 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> | 0.238                   | 0.047*    | 0.449             | < 0.001** |
| WBC, 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>       | 0.215                   | 0.073     | 0.030             | 0.794     |
| HbA1, g/dL                                  | –0.783                  | < 0.001** | –0.812            | < 0.001** |
| HbF, g/dL                                   | 0.517                   | < 0.001** | 0.495             | < 0.001** |
| HbS, g/dL                                   | 0.785                   | < 0.001** | 0.831             | < 0.001** |
| HbA2, g/dL                                  | 0.367                   | 0.002*    | 0.316             | 0.004*    |
| Serum ferritin, ng/mL                       | 0.186                   | 0.285     | –0.259            | 0.106     |
| AST, IU/L                                   | 0.278                   | 0.020*    | 0.246             | 0.028     |
| ALT, IU/L                                   | 0.101                   | 0.406     | 0.171             | 0.130     |
| Serum urea, mg/dL                           | 0.040                   | 0.784     | 0.082             | 0.472     |
| Serum creatinine, mg/dL                     | 0.033                   | 0.784     | 0.057             | 0.613     |

Note. r – Pearson correlation coefficient; \* – significant difference; \*\* – highly significant difference.

KYN levels were significantly elevated in SCD cases, while TRP concentrations were the same.

As previously established, inflammation and immunological activity are also associated with increased TRP degradation [13]. IDO, present in all tissues, and TDO, which is mostly found in the hepatic cells, facilitate the conversion of TRP to KYN. IDO is induced by IFN- $\gamma$  in inflammatory conditions [14].

According to Sabuncuoğlu et al. [4], a significant proportion of SCD patients, both in a steady state and in an infectious state associated with crisis, have impaired IFN- $\gamma$  production. In view of the known immunomodulatory properties of IFN- $\gamma$ , this defect may be one of the factors contributing to the increased incidence and severity of infections in SCD patients.

IFN- $\gamma$  was shown to be increased in SCD patients. Increased IFN- $\gamma$  production in SCD suggests that functionally activated natural killer cells reflect a host's immunological mechanism leading to antigen-antibody activation in SCD. Serum interleukin-10 was increased in SCD patients in a steady state. CD4<sup>+</sup>T lymphocytes were decreased in SCD patients during VOC [15].

The majority of the patients in the group of interest had conditional TCD velocities (67.5%), 20% of patients had normal results, 12.5% patients were high-risk, while all controls had normal TCD findings. Echocardiography was normal in both groups.

Children with SCA usually have increased cerebral blood flow velocity compared with age-matched controls, but there is little information about blood velocities in children with SCA younger than 2 years [16]. Hogan et al. [17] reported that children with SCA included in their study had middle cerebral artery velocities of 50–112 cm/s (median: 70 cm/s) at 3 months of age, 50–160 cm/s (median: 89 cm/s) at 9 months of age and 51–120 cm/s (median: 97 cm/s) at 12 months of age. The series of tests performed by Hogan et al. [17] revealed a negative correlation between developmental screening test scores and TCD-derived velocities in children with SCA.

The BABY HUG study provides TCD data on the largest sample of children with SCA known to date, with adequate baseline TCD ultrasounds performed in 192 patients. All but four cases (2%) were classified as normal by STOP criteria, compared to 9.3% of cases who were considered abnormal and 17.6% who were interpreted as conditional in STOP screening of children aged 2–16 years [18]. As expected, baseline TCD rates varied inversely with hemoglobin levels following age-adjustment, and the direct association with the reticulocyte count was anticipated because of the already established inverse relationship between the hemoglobin level and the reticulocyte count [19].

There was a significant positive correlation between serum neopterin levels and MCH, platelets,

HbF, HbS, HbA2 and AST, and a significant negative correlation between serum neopterin levels and the patients' height, Hb, HCT and HbA1. Serum KYN levels had a significant positive correlation with BMI, HbA2, HbF, HbS, MCV, MCH and platelets; and a significant negative correlation with Hb, HCT and HbA1.

The KYN pathway is responsible for the formation of many metabolic products known as KYN during TRP degradation. KYN and its metabolic products are well-recognized for their effects on the central nervous system and are believed to be related to a variety of psychiatric and mental health conditions, including depression and schizophrenia [20, 21].

Increased neopterin levels are thought to be associated with hematopoietic system abnormalities in patients with infectious and malignant disorders. Neopterin concentrations were also found to correlate inversely with hemoglobin levels, and neopterin was linked to iron metabolism abnormalities [16, 17].

In another study, no correlation between hemoglobin levels and neopterin concentrations, or between neopterin concentrations and a number of iron parameters was discovered, suggesting that neopterin does not affect the synthesis of RBCs and iron metabolism. Higher neopterin concentrations in HbSS cases are probably caused by chronic inflammatory conditions. It was revealed that through intravascular hemolysis, the physical separation of hemoglobin from the endothelium is disrupted, resulting in effective nitric oxide scavenging and endothelial dysfunction [22].

As demonstrated by I. Anwaar et al. in their study in patients with acute cerebral ischemia, the activation of macrophages within blood vessels damaged by SCD may result in the release of neopterin into the blood flow [23].

Croizat and Nagel [24] examined the role of circulating cytokines in the synthesis of RBCs in SCD. Stem cell factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor levels were higher in LFSS patients (SCA patients with low HbF) than in HFSS patients (SCA patients with high HbF). Transforming growth factor- $\beta$ , a cell growth inhibitor, was lower in patients with low HbF, indicating a constant state of increased hematopoiesis in LFSS cases in response to increased erythropoietic stress.

In a study by Rodrigues et al. [12], SS cases were subdivided according to HbF levels: one group showed HbF < 8.5% (LFSS) and the other group had HbF  $\geq$  8.5% (HFSS). Total Hb levels were lower in LFSS cases than in HFSS cases. Interleukin-3 concentrations were much higher in HFSS cases than in LFSS cases. Neopterin levels did not vary between the groups.

---

## CONCLUSION

---

Neopterin is produced by macrophages and monocytes following stimulation with IFN- $\gamma$ . An increase

in neopterin levels may be a direct consequence of chronic immune activation in SCD patients since it has a positive effect on hematopoiesis in such cases. Serum KYN concentrations can be a new prognostic marker in patients with SCD.

#### FUNDING

Not specified.

#### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

#### ORCID

El-Hawy M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3420-922X>

Bedair H.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2229-3129>

## References

- Usman M.R., Pawara S.M., Patil T.P. Sick cell disease: an overview. *J Pharm Res* 2017; 11 (6): 780–6.
- Kumar A.A., Patton M.R., Hennek J.W., Lee S.Y., D'Alesio-Spina G., Yang X., et al. Density-based separation in multiphase systems provides a simple method to identify sickle cell disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111 (41): 14864–9.
- Sundt P., Gladwin M.T., Novelli E.M. Pathophysiology of sickle cell disease. *Annu Rev Pathol* 2019; 14: 263–92.
- Sabuncuoğlu S., Öztaş Y., Yalcinkaya A., Ünal S., Baydar T., Girgin G. The increased neopterin content in Turkish pediatric patients with sickle cell anemia. *Ann Hematol* 2020; 99 (1): 41–7.
- Heistermann M., Higham J.P. Urinary neopterin, a non-invasive marker of mammalian cellular immune activation, is highly stable under field conditions. *Sci Rep* 2015; 5 (1): 1–3.
- Drugan C., Drugan T.C., Miron N., Grigorescu-Sido P., Naşcu I., Cătană C. Evaluation of neopterin as a biomarker for the monitoring of Gaucher disease patients. *Hematology* 2016; 21 (6): 379–86.
- Girgin G., Sahin T.T., Fuchs D., Yuksele O., Kurukahvecioglu O., Sare M., et al. Tryptophan degradation and serum neopterin concentrations in intensive care unit patients. *Toxicol Mech Methods* 2011; 21 (3): 231–5.
- Mándi Y., Vécsei L. The kynurenine system and immunoregulation. *J Neural Transm (Vienna)* 2012; 119 (2): 197–209.
- Cervenka I., Agudelo L.Z., Ruas J.L. Kynurenines: Tryptophan's metabolites in exercise, inflammation, and mental health. *Science* 2017; 357 (6349).
- Wang Q., Liu D., Song P., Zou M.H. Deregulated tryptophan-kynurenine pathway is linked to inflammation, oxidative stress, and immune activation pathway in cardiovascular diseases. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2015; 20: 1116.
- Howard J., Davies S.C. Clinical manifestations of sickle cell disease. *Paediatr Child Health* 2007; 8 (17): 311–6.
- Rodrigues L., Costa F.F., Saad S.T., Grotto H.Z. High levels of neopterin and interleukin-3 in sickle cell disease patients. *J Clin Lab Anal* 2006; 20 (3): 75–9.
- Okamoto A., Nikaido T., Ochiai K., Takakura S., Saito M., Aoki Y., et al. Indoleamine 2, 3-dioxygenase serves as a marker of poor prognosis in gene expression profiles of serous ovarian cancer cells. *Clin Cancer Res* 2005; 11 (16): 6030–9.
- Munn D.H., Mellor A.L. IDO in the tumor microenvironment: inflammation, counter-regulation, and tolerance. *Trends Immunol* 2016; 37 (3): 193–207.
- Mahmoud A.A., Awad M.S., Abdallah H.M., Younis F.E., El-Hawy M.A. Evaluation of immunological role of Interferon gamma, Interleukin-10 and CD4<sup>+</sup> T lymphocytes in pediatric patients with sickle cell disease. *Al-Azhar University Journal of Virus Researches and Studies* 2020; 2 (1): 1–5.16.
- Hogan A.M., Kirkham F.J., Prengler M., Telfer P., Lane R., Vargha-Khadem F., et al. An exploratory study of physiological correlates of neurodevelopmental delay in infants with sickle cell anaemia. *Br J Haematol* 2006; 132 (1): 99–107.
- Adams R., McKie V., Nichols F., Carl E., Zhang D.L., McKie K., et al. The use of transcranial ultrasonography to predict stroke in sickle cell disease. *N Engl J Med* 1992; 326 (9): 605–10.
- Pavakis S.G., Rees R.C., Huang X., Brown R.C., Casella J.F., Iyer R.V., et al. Transcranial doppler ultrasonography (TCD) in infants with sickle cell anemia: baseline data from the BABY HUG trial. *Pediatr Blood Cancer* 2010; 54 (2): 256–9.
- Greathouse K.L., Wyatt M. Targeting Dietary and Microbial Tryptophan-Indole Metabolism as Therapeutic Approaches to Colon Cancer. *Nutrients* 2021; 13 (4): 1189.
- Gautam U.S., Foreman T.W., Bucsan A.N., Veatch A.V., Alvarez X., Adekambi T., et al. *In vivo* inhibition of tryptophan catabolism reorganizes the tuberculosis and augments immune-mediated control of Mycobacterium tuberculosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2018; 115 (1): E62–71.
- Reiter C.D., Wang X., Tanus-Santos J.E., Hogg N., Cannon R.O., Schechter A.N., et al. Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. *Nat Med* 2002; 8 (12): 1383–9.
- Anwaar I., Gottsäter A., Lindgärde F., Mattiasson I. Increasing plasma neopterin and persistent plasma endothelin during follow-up after acute cerebral ischemia. *Angiology* 1999; 50 (1): 1–8.
- Croizat H., Nagel R.L. Circulating cytokines response and the level of erythropoiesis in sickle cell anemia. *Am J Hematol* 1999; 60 (2): 105–15.

© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России  
Поступила 29.04.2022  
Принята к печати 23.05.2022

DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-28-41

# Острый лимфобластный лейкоз высокого риска в исследовании ALL-MB 2002

Д.В. Литвинов<sup>1</sup>, Н.В. Мякова<sup>1</sup>, О.В. Алейникова<sup>1,2</sup>, Л.Г. Фечина<sup>3</sup>, Л.М. Минкина<sup>4</sup>, К.Л. Кондратчик<sup>5</sup>, Е.В. Инюшкина<sup>6</sup>, К.С. Асланян<sup>7</sup>, О.В. Рыскаль<sup>8</sup>, Л.И. Жарикова<sup>1</sup>, О.И. Быданов<sup>1,2</sup>, С.Н. Лагойко<sup>1</sup>, Ю.В. Румянцева<sup>1</sup>, Г.А. Новичкова<sup>1</sup>, А.И. Карачунский<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Республика Беларусь, Минский район, д. Боровляны

<sup>3</sup>ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург

<sup>4</sup>ГБУЗ «Краевая детская клиническая больница №1», Владивосток

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

<sup>6</sup>ГБУЗ МО «Московский областной онкологический диспансер», Балашиха

<sup>7</sup>ГБУ РО «Областная детская клиническая больница», Ростов-на-Дону

<sup>8</sup>ГБУЗ ПК «Краевая детская клиническая больница», Пермь

## Контактная информация:

Литвинов Дмитрий Витальевич,  
главный врач ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России  
Адрес: 117997, Москва,  
ул. Саморы Машела, 1  
E-mail: dmitry.litvinov@fccho-moscow.ru

В работе представлены финальные результаты терапии пациентов с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) группы высокого риска (ГВР) по протоколу ALL-MB 2002, регистрационная фаза которого проходила в период с 15.04.2002 по 01.01.2008. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. В исследовании приняли участие 36 отделений (Центров) детской гематологии/онкологии Российской Федерации и Республики Беларусь. В анализ были включены 110 первичных пациентов с ОЛЛ в возрасте от 1 до 18 лет, соответствовавших критериям ГВР, принятым в данном исследовании: 29 пациентов были с транслокацией t(9;22), 11 – с транслокацией t(4;11) и 70 детей без стратифицирующих генетических аномалий, не достигших ремиссии к 36-му дню индукции (16 из группы стандартного и 54 из группы промежуточного риска, определенных изначально). Медиана длительности наблюдения за пациентами составила 10,75 (8,6–13,8) года. В целом по ГВР первая полная ремиссия (ПР1) достигнута у 80,9% пациентов. Рецидивы развились в 37,27% случаев, из них 51,22% составили очень ранние. В 73% случаев рецидивы были изолированными костномозговыми, уровень изолированных рецидивов центральной нервной системы составил 4,55%. Ни у одного пациента не было констатировано развитие второй опухоли, 5,45% были потеряны из-под наблюдения. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток была проведена 15,7% пациентов, достигших ПР1. Ингибитор тирозинкиназы получили только половина пациентов с Rh-позитивным ОЛЛ. Суммарно 26,36% пациентов остаются в ПР1. Общая и бессобытийная выживаемость составили 32,9 ± 4,6% и 31,5 ± 4,5% соответственно, кумулятивные риски развития рецидивов и летальности, связанной с лечением, – 37,6 ± 4,3% и 20,9 ± 3,8% соответственно. По большинству инициальных параметров и частоте ответа на терапию подгруппы больных не отличались. Общая и бессобытийная выживаемость была наибольшей у больных ОЛЛ с транслокацией t(4;11) – 54,5 ± 15% и 45,5 ± 15% соответственно, наименьшей – у пациентов без стратифицирующих аномалий, не достигших ремиссии на 36-й день, – 29,1 ± 5,6% и 27,1 ± 5,3% соответственно. Кумулятивный риск развития рецидива был максимальным у больных, не ответивших на терапию индукции (42,9 ± 5,2%), а кумулятивный риск летальности, связанной с лечением, – у пациентов с Rh-позитивным ОЛЛ (31,0 ± 8,6%). Пятилетняя общая выживаемость пациентов с рецидивом ОЛЛ после терапии по программе высокого риска оказалась экстремально низкой – 7,7% (95% доверительный интервал 0–16,1) с медианой длительности жизни после рецидива всего 187 дней, что свидетельствует об ограниченности вариантов терапии второй линии у пациентов ГВР в рамках чисто химиотерапевтических стратегий.

**Ключевые слова:** острый лимфобластный лейкоз, дети, высокий риск, протокол ALL-MB 2002

Литвинов Д.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022; 21 (3): 28–41. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-28-41

## High-risk acute lymphoblastic leukemia in the ALL-MB 2002 study

D.V. Litvinov<sup>1</sup>, N.V. Myakova<sup>1</sup>, O.V. Aleynikova<sup>1,2</sup>, L.G. Fechina<sup>3</sup>, L.M. Minkina<sup>4</sup>, K.L. Kondratchik<sup>5</sup>, E.V. Inyushkina<sup>6</sup>, K.S. Aslanyan<sup>7</sup>, O.V. Ryskal<sup>8</sup>, L.I. Zharikova<sup>1</sup>, O.I. Bydanov<sup>1,2</sup>, S.N. Lagoyko<sup>1</sup>, Yu.V. Rumyantseva<sup>1</sup>, G.A. Novichkova<sup>1</sup>, A.I. Karachunskiy<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Borovlyany, Minsk region, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Regional Children's Clinical Hospital, Ekaterinburg

<sup>4</sup>Regional Children's Clinical Hospital No. 1, Vladivostok

<sup>5</sup>The Morozov Children's City Clinical Hospital of the Department of Health of Moscow, Moscow

<sup>6</sup>Moscow Regional Oncology Center, Balashikha

<sup>7</sup>Regional Children's Clinical Hospital, Rostov-on-Don

<sup>8</sup>Regional Children's Clinical Hospital, Perm

This paper presents the results for the patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL) from the high-risk group (HRG) treated according to the ALL-MB 2002 Protocol. The registration phase of the study was performed from 15.04.2002 to 01.01.2008. 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 involved 36 departments (centers) of pediatric hematology/oncology in Russia and Belarus. One hundred and ten primary patients with ALL aged 1 to 18 years who met the criteria for high risk group, were analyzed: 29 patients with t(9;22), 11 patients with t(4;11), and 70 patients without stratifying genetic abnormalities who did not achieve remission by day 36 of induction therapy (16 patients from the standard risk group and 54 patients from the intermediate risk group, at initial). Median follow-up was 10.75 (8.6–13.8) years. First remission (CR1) was achieved in 80.9% of patients. 37.27% of patients relapsed, 51.22% of relapses were very early. The proportion of isolated bone marrow relapse was 73%, while isolated central nervous system relapses were observed in 4.55% of the cases. None of the patients developed a secondary tumor, 5.45% of patients were lost from follow-up. Only 15.7% of patients with CR1 received allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Only half of the patients with Ph-positive ALL received treatment with tyrosine kinase inhibitors. In total, 26.36% of patients remain in CR1. Overall and event-free survival were  $32.9 \pm 4.6\%$  and  $31.5 \pm 4.5\%$ , respectively. The cumulative risks of relapses and treatment-related mortality were  $37.6 \pm 4.3\%$  and  $20.9 \pm 3.8\%$ , respectively. There were no significant difference in the initial parameters and responses to therapy between the subgroups of patients. Overall and event-free survival were the highest in patients with ALL with t(4;11):  $54.5 \pm 15\%$  and  $45.5 \pm 15\%$ , respectively. The lowest overall and event-free survival were observed in the subgroup of patients without stratifying anomalies who did not achieve remission on day 36:  $29.1 \pm 5.6\%$  and  $27.1 \pm 5.3\%$ , respectively. The cumulative risk of relapse was the highest in patients who did not respond to induction therapy ( $42.9 \pm 5.2\%$ ). The cumulative risk of treatment-related mortality was the highest in patients with Ph-positive ALL ( $31.0 \pm 8.6\%$ ). The 5-year overall survival of patients with ALL relapse after high-risk therapy was extremely low – 7.7% (95% confidence interval 0–16.1), median overall survival after relapse in this group was only 187 days. This indicates that the options for second-line therapy of high-risk patients were severely limited at the time of ALL-MB 2002 study, because they included only chemotherapeutic strategies.

**Key words:** acute lymphoblastic leukemia, children, high risk, the ALL-MB 2002 protocol

Litvinov D.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (3): 28–41.  
DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-28-41

**О**стрый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) – самое частое онкологическое заболевание у детей, составляющее до 25% всех злокачественных неоплазий в данной возрастной группе [1–3]. ОЛЛ характеризуется клональной пролиферацией клеток-предшественников иммунной системы ребенка. До середины XX века заболевание было абсолютно фатальным, однако прогресс в онкологии за последние 60 лет позволил достигнуть длительной выживаемости, а далее – выздоровления в 80–90% случаев [4, 5]. Это стало возможным главным образом благодаря проведению мультицентровых проспективных исследований разных научных групп с использованием риск-стратифицированного лечения.

В России с начала 1990-х годов исторически сложилась ситуация, когда подавляющее большинство пациентов с ОЛЛ начали получать терапию по BFM-ориентированным протоколам. Очень скоро стало понятно, что при воспроизведении интенсивных химиотерапевтических схем этих протоколов в условиях России и стран постсоветского пространства суммарные токсичность и летальность оказались значительно более высокими по сравнению с данными зарубежных коллег. Такая ситуация была продиктована недостаточной готовностью системы отечественного детского здравоохранения к воспроизведению такой ресурсоемкой терапии, в первую очередь, сопроводительной и противоинфекционной [6]. Это послужило отправной точкой для переосмысления результатов воспроизведения зарубежных протоколов в отечественной практике и привело к созданию в 1991 г. в результате коллаборации руководителя отделения детской онкологии/гематологии Клиники Шарите (Берлин, Германия) профессора Гюнтера Хенце и руководителя отделения онкогематологии НИИ детской гематологии (ныне ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава

России) А.И. Карачунского первого отечественного протокола со сниженной интенсивностью, получившего название «Москва–Берлин». Первая версия протокола (ALL-MB 91) успешно прошла сравнительные исследования эффективности и безопасности с протоколом ALL-BFM 90m в условиях быстро развивавшейся мультицентровой исследовательской группы [7, 8]. Анализ результатов терапии пациентов, включенных в протокол ALL-MB 91, привел к пониманию целесообразности и возможности развития его терапевтической концепции, выделения группы высокого риска (ГВР) и возможности проведения популяционного проспективного рандомизированного исследования. Продуктом такой трансформации стала вторая версия протокола – ALL-MB 2002, стартовавшая в апреле 2002 г. и объединившая 36 профильных отделений (клиник) Российской Федерации и Республики Беларусь. Результаты лечения разных терапевтических подгрупп стандартного (ГСР) и промежуточного (ГПР) риска неоднократно уже были опубликованы в отечественной и зарубежной литературе [9–12].

**Цель настоящей работы** – описать финальные результаты терапии у пациентов ГВР, включенных в протокол ALL-MB 2002.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Пациенты

С 15 апреля 2002 г. по 1 января 2008 г. в 36 клиниках России и Беларуси были зарегистрированы 1873 первичных больных ОЛЛ в возрасте от 1 года до 18 лет. Протокольными были признаны 1544 пациента, из которых 98 были отнесены в ГВР согласно критериям, принятым в протоколе ALL-MB 2002 (наличие транслокаций t(9;22) и t(4;11) и отсутствие достижения ремиссии на 36-й день индукции).

### Correspondence:

Dmitry V. Litvinov,  
Chief Physician of the Dmitry Rogachev  
National Medical Research Center of Pediatric  
Hematology, Oncology and Immunology,  
Ministry of Healthcare  
of the Russian Federation  
Address: 1 Samory Mashela St.,  
117997, Moscow, Russia  
E-mail: dmitry.litvinov@fccho-moscow.ru



Кроме того, в настоящий анализ также были включены 12 пациентов, участвовавших в пилотном исследовании применения ПЭГ-аспарагиназы в индукции и соответствовавших критериям ГВР. Таким образом, описываемые результаты касаются 110 пациентов ГВР. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

#### Диагностика и определение событий

Во всех случаях диагноз ОЛЛ был установлен общепринятыми методами путем цитологического и цитохимического исследований мазков костного мозга (КМ) с морфологической оценкой согласно FАВ-критериям при условии наличия более 25% лимфобластов. Иммунофенотипирование бластных клеток в КМ 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) [13]. Диагноз инициальной нейролейкемии устанавливали в следующих случаях:

- наличие бластных клеток при цитологическом исследовании ликвора при цитозе 5/мм<sup>3</sup> и более;
- наличие пареза/паралича черепно-мозговых нервов даже при отсутствии бластных клеток в ликворе и внутримозгового образования по данным компьютерной томографии;
- выявление опухолевых образований в головном мозге и мозговой оболочке при помощи инструментальных методов обследования.

Ремиссию устанавливали при наличии в миелограмме не более 5% бластных клеток при полиморфной цитологической картине КМ, нормальном анализе крови и ликвора и отсутствии экстрамедуллярных проявлений лейкоза.

Изолированный костномозговой рецидив регистрировался при наличии, по крайней мере, 25% лимфобластов в КМ без признаков экстрамедуллярной лейкоэмической инфильтрации. В случаях с доказанной экстрамедуллярной лейкоэмической инфильтрацией комбинированный костномозговой рецидив диагностировался при наличии более 5% лимфобластов в КМ. Изолированный экстрамедуллярный рецидив подтверждался при наличии клинических экстрамедуллярных проявлений лейкоэмии и отсутствии лейкоэмической инфильтрации (менее 5% лимфобластов) в миелограмме. Диагноз нейро-рецидива устанавливали при появлении признаков поражения центральной нервной системы (ЦНС) (аналогично критериям инициальной нейролейкемии) после первичного достижения ремиссии.

Резистентность к терапии (non-responder) определялась как отсутствие ремиссии в КМ после

первых 3 блоков высокодозной терапии по программе для ГВР.

Смерть в индукции 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 6 мес.

#### Лечение

Общая схема протокола ALL-MB 2002 приведена на *рисунке 1*. Критерии распределения пациентов по группам риска отражены в *таблице 1*. Подробное описание схемы рандомизации и терапии ГСР и ГПР неоднократно уже были опубликованы и широко известны [9]. Пациенты ГВР при отсутствии транслокаций t(9;22) и t(4;11) получали индукционную терапию в соответствии с инициально определенной группой риска (ГСР или ГПР) с учетом инициального лейкоцитоза, иммунофенотипа бластных клеток, наличия поражения ЦНС и вовлечения средостения, а после констатации отсутствия ремиссии – терапию последовательно 3 модифицированными терапевтическими элементами HR-1, HR-2 и HR-3 (*таблица 2*), затем при условии достижения ремиссии и наличия возможности – аллогенную ТГСК. При невозможности проведения ТГСК продолжалась высокодозная полихимиотерапия до 6 блоков (HR-1, HR-2 и HR-3), проводился протокол II (аналогичный таковому из протокола ALL-BFM 90). После протокола II пациенты получали краниальное облучение в дозе 18 Гр (дети в возрасте 1–3 года – 12 Гр) с последующей поддерживающей терапией в течение 1,5 лет. Пациенты, которые были инициально отнесены к ГВР на основании обнаружения транслокации t(4;11) или t(9;22), после индукции аналогично ГПР получали высокодозные блоки (с 2005 г. при наличии t(9;22) с добавлением иматиниба между блоками и далее до окончания поддерживающей терапии), ТГСК (при наличии совместимого донора и возможности организации трансплантации) или протокол II, краниальное облучение и поддерживающую терапию.

#### Организация исследования и статистический анализ

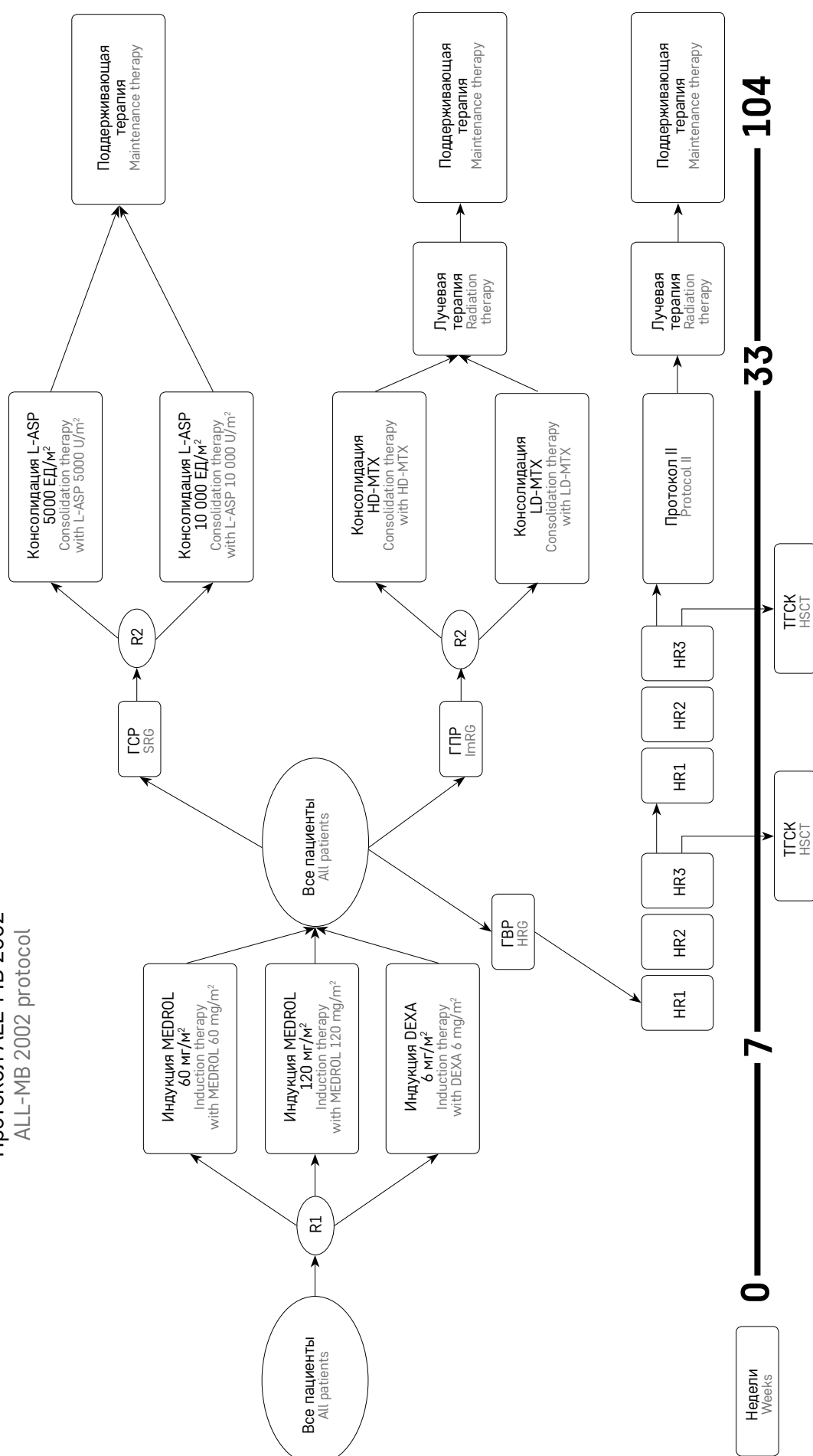
Включенные в данное исследование больные регистрировались в течение первых 3 сут после установления диагноза ОЛЛ и рандомизировались координационным центром на базе НИИ детской

**Рисунок 1**  
Схема терапевтических элементов протокола ALL-MB 2002  
ТГСК – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

**Figure 1**  
Treatment flow chart of the ALL-MB 2002 protocol

HSCT – hematopoietic stem cell transplantation; SRG – standard-risk group; ImRG – intermediate-risk group; HRG – High-risk group

### Протокол ALL-MB 2002 ALL-MB 2002 protocol



**Таблица 1**  
Распределение пациентов, включенных в протокол ALL-MB 2002, по группам риска

**Table 1**  
The assignment of patients included in the ALL-MB 2002 protocol to risk groups

| Группа риска<br>Risk group | Критерии<br>Criteria                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ГСР<br>SRG                 | Необходимо выполнение всех критериев:<br>Инициальный лейкоцитоз $< 50 \times 10^9/\text{л}$<br>Отсутствие поражения ЦНС<br>Возраст старше 1 года<br>Не-Т-клеточный фенотип<br>Отсутствие поражения средостения<br>Отсутствие транслокаций t(4;11) и/или t(9;22)<br>Достижение ремиссии на 36-й день терапии<br>All criteria must be met:<br>Initial WBC count $< 50 \times 10^9/\text{L}$<br>No central nervous system involvement<br>Age $> 1$ year<br>Non-T-cell phenotype<br>No mediastinal involvement<br>No t(4;11) and/or t(9;22) translocation(s)<br>Remission on day 36 of treatment                                             |
| ГПР<br>ImRG                | Отсутствие транслокаций t(4;11) и/или t(9;22) и достижение ремиссии на 36-й день терапии, а также наличие хотя бы одного из следующих критериев:<br>Инициальный лейкоцитоз $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$<br>Поражение ЦНС<br>Т-клеточный ОЛЛ (Т-ОЛЛ) и/или поражение средостения<br>Возраст младше 1 года*<br>No t(4;11) and/or t(9;22) translocation(s) and<br>Remission on day 36 of treatment and the fulfillment of at least one of the following criteria:<br>Initial WBC count $\geq 50 \times 10^9/\text{L}$<br>CNS involvement<br>T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) and/or mediastinal involvement<br>Age $< 1$ year* |
| ГВР<br>HRG                 | Наличие транслокаций t(4;11) и/или t(9;22)<br>Отсутствие ремиссии на 36-й день терапии<br>The presence of the t(4;11) and/or t(9;22) translocation(s)<br>No remission on day 36 of treatment                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |

Примечание. \* – пациенты младше 1 года в анализ, представленный в этой статье, не включены.  
Note. \* – Patients under 1 year of age are not included in the analysis presented in this article.

гематологии Минздрава России согласно листу рандомизации с равными вероятностями для рукавов исследования. По завершении индукции координационный центр вновь связывался с кооперативной группой и в случае достижения пациентом ремиссии немедленно проводилась рандомизация на одну из ветвей исследования в зависимости от группы риска, а при отсутствии ремиссии больной переводился в ГВР. Кроме этого, каждые 6 мес координационный центр активно запрашивал информацию о состоянии каждого больного по телефону и по электронной почте.

Результаты терапии оценивали по числу пациентов, у которых была достигнута полная ремиссия (ПР), количеству смертей в индукции, рецидивов, летальных исходов в ПР и числу больных, находящихся в первой продолжительной ПР (ПППР). В процессе статистической обработки определялись показатели общей (ОВ) и бессобытийной (БСВ) выживаемости, рассчитанные по методу Каплана–Майера [14]. Для сравнения кривых выживаемости использовали непараметрический log-rank-критерий [15].

Выживаемость рассчитывалась от даты диагностики ОЛЛ до даты наступления неблагоприятного события или последнего контакта с пациентом. При оценке БСВ событиями считали смерть в индукции, смерть в ремиссии, рецидив, вторую опухоль, рефрактерность к терапии (non-responder). При оценке ОВ событием являлась смерть больного от любой причины.

Оценку кумулятивных рисков развития рецидивов (cumulative incidence of relapse, CIR) или смерти, обусловленной терапией (cumulative incidence of death, CID), проводили согласно методике J. Kalbfleisch и R. Prentice [16, 17]. Для сравнения рисков использовали метод Грея.

При сравнении групп пациентов по категориальным признакам применяли критерий  $\chi^2$  или точный критерий Фишера. Сравнение медиан производили по критерию Манна–Уитни или критерию Краскела–Уоллиса.

Статистические вычисления были выполнены с помощью программ STATGRAPHICS Plus 5.0 и XLSTAT 2019. Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Анализ инициальных клинико-лабораторных данных

Пациенты ГВР составили 110 человек. Медиана длительности наблюдения больных, находящихся в ПППР, составила 10,75 (8,6–13,8) года. Большая часть (55%) этих пациентов на момент последнего апдейта базы данных уже переступили порог 18-летнего возраста. В ГСР изначально по критериям протокола были определены 16 пациентов, в ГПР – 54. Не достигнув ремиссии на 36-й день, все они были переведены в ГВР (подгруппа «не ответившие на 36-й день» – 63,6% всех пациентов ГВР). В ГВР ввиду наличия стратифицирующих транслокаций изначально были стратифицированы 40 пациентов: с t(4;11) – 11 (6 мальчиков и 5 девочек), что составило 10% всех больных ГВР, с t(9;22) – 29 (12 мальчиков и 17 девочек), что составило 26,4% всех пациентов ГВР.

Описание инициальных характеристик пациентов ГВР представлено в таблице 3. Значимых достоверных различий в инициальных клинико-лабораторных показателях между подгруппами больных, составляющих ГВР (не ответившие на 36-й день, пациенты с ОЛЛ с транслокациями t(9;22) и t(4;11)) обнаружено не было.

Отмечено небольшое преобладание мальчиков над девочками (соотношение 1,16:1). Медиана возраста среди всех пациентов ГВР составила 9,4 (1,3–16,9) года, достоверных различий в возрасте между мальчиками и девочками обнаружено не

**Таблица 2**  
Состав блоков химиотерапии пациентов ГВР

**Table 2**  
Composition of chemotherapy cycles for the HRG patients

| Лечебный препарат<br>Therapeutic agent                                                        | Путь введения<br>Route of administration                                                                                                             | Дни введения<br>Days of administration                                                                           | Дозовый режим<br>Dose regimen                                                                                                                                                       |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Блок HR1</b><br>HR1 cycle                                                                  |                                                                                                                                                      |                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                     |
| Дексаметазон<br>Dexamethasone                                                                 | Внутрь или внутривенно<br>Oral or intravenous                                                                                                        | 1–5                                                                                                              | 20 мг/м <sup>2</sup> /сут<br>20 mg/m <sup>2</sup> /day                                                                                                                              |
| 6-Меркаптопурин<br>6-Mercaptopurine                                                           | Внутрь<br>Oral                                                                                                                                       | 1–5                                                                                                              | 100 мг/м <sup>2</sup> /сут<br>100 mg/m <sup>2</sup> /day                                                                                                                            |
| Винкристин<br>Vincristine                                                                     | Внутривенно болюсно<br>Intravenous bolus                                                                                                             | 1, 6                                                                                                             | 1,5 мг/м <sup>2</sup> (максимум 2,0 мг)<br>1.5 mg/m <sup>2</sup> (max 2.0 mg)                                                                                                       |
| Цитарабин<br>Cytarabine                                                                       | Внутривенно за 3 ч<br>Intravenous, over 3 h                                                                                                          | 5                                                                                                                | 2 введения с интервалом в 12 ч в дозе 2000 мг/м <sup>2</sup><br>2 injections with an interval of 12 hours at the dose of 2000 mg/m <sup>2</sup>                                     |
| Метотрексат*<br>Methotrexate*                                                                 | Внутривенно<br>Intravenous                                                                                                                           | 1                                                                                                                | 2000 мг/м <sup>2</sup> за 24 ч с болюсом 1/5 дозы за 10 мин<br>2000 mg/m <sup>2</sup> over 24 hours with a bolus of one-fifth of the dose over 10 minutes                           |
| L-аспарагиназа<br>L-asparaginase                                                              | Внутримышечно<br>Intramuscular                                                                                                                       | 6                                                                                                                | 10 000 Ед/м <sup>2</sup><br>10 000 U/m <sup>2</sup>                                                                                                                                 |
| Метотрексат +<br>цитарабин +<br>преднизолон<br>Methotrexate +<br>cytarabine +<br>prednisolone | Инtrateкально совместно,<br>после болюса высоких доз<br>метотрексата**<br>Intrathecal coadministration, after a<br>bolus of high-dose methotrexate** | 1                                                                                                                | 6/8/10/12 мг<br>20/30/40/50 мг<br>6/8/10/12 мг<br>20/30/40/50 мг<br>6/8/10/12 мг                                                                                                    |
| <b>Блок HR2</b><br>HR2 cycle                                                                  |                                                                                                                                                      |                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                     |
| Дексаметазон<br>Dexamethasone                                                                 | Внутрь или внутривенно<br>Oral or intravenous                                                                                                        | 1–5                                                                                                              | 20 мг/м <sup>2</sup> /сут<br>20 mg/m <sup>2</sup> /day                                                                                                                              |
| 6-Меркаптопурин<br>6-Mercaptopurine                                                           | Внутрь<br>Oral                                                                                                                                       | 1–5                                                                                                              | 100 мг/м <sup>2</sup> /сут<br>100 mg/m <sup>2</sup> /day                                                                                                                            |
| Винкристин<br>Vincristine                                                                     | Внутривенно болюсно<br>Intravenous bolus                                                                                                             | 1                                                                                                                | 1,5 мг/м <sup>2</sup> (максимум 2,0 мг)<br>1.5 mg/m <sup>2</sup> (max 2.0 mg)                                                                                                       |
| Идарубицин<br>Idarubicin                                                                      | Внутривенно за 6 ч<br>Intravenous, over 6 h                                                                                                          | 5                                                                                                                | 8 мг/м <sup>2</sup><br>8 mg/m <sup>2</sup>                                                                                                                                          |
| Метотрексат*<br>Methotrexate*                                                                 | Внутривенно<br>Intravenous                                                                                                                           | 1                                                                                                                | 2000 мг/м <sup>2</sup> за 24 ч с болюсом 1/5 дозы за 10 мин<br>2000 mg/m <sup>2</sup> over 24 h with a bolus of one-fifth of the dose over 10 min                                   |
| Ифосфамид<br>Ifosfamide                                                                       | Внутривенно за 1 ч<br>Intravenous, over 1 h                                                                                                          | 2–4                                                                                                              | 5 введений с интервалом в 12 ч в дозе 400 мг/м <sup>2</sup><br>с уромитексаном<br>5 injections with an interval of 12 hours at the dose of 400 mg/m <sup>2</sup><br>with Uromitexan |
| L-аспарагиназа<br>L-asparaginase                                                              | Внутримышечно<br>Intramuscular                                                                                                                       | 6                                                                                                                | 10 000 Ед/м <sup>2</sup><br>10 000 U/m <sup>2</sup>                                                                                                                                 |
| Метотрексат +<br>цитарабин +<br>преднизолон<br>Methotrexate +<br>cytarabine +<br>prednisolone | Инtrateкально совместно,<br>после болюса высоких доз<br>метотрексата**<br>Intrathecal coadministration, after a<br>bolus of high-dose methotrexate** | 1 (1 и 5 при<br>инициаль-<br>ном<br>поражении<br>ЦНС)<br>1 (1 and 5<br>in case of<br>initial CNS<br>involvement) | 6/8/10/12 мг<br>20/30/40/50 мг<br>6/8/10/2 мг<br>6/8/10/12 мг<br>20/30/40/50 мг<br>6/8/10/12 мг                                                                                     |
| <b>Блок HR3</b><br>HR3 cycle                                                                  |                                                                                                                                                      |                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                     |
| Дексаметазон<br>Dexamethasone                                                                 | Внутрь или внутривенно<br>Oral or intravenous                                                                                                        | 1–5                                                                                                              | 20 мг/м <sup>2</sup> /сут<br>20 mg/m <sup>2</sup> /day                                                                                                                              |
| Цитарабин<br>Cytarabine                                                                       | Внутривенно за 3 ч<br>Intravenous, over 3 h                                                                                                          | 1–2                                                                                                              | 4 введения с интервалом в 12 ч в разовой дозе 2000 мг/м <sup>2</sup><br>4 injections with an interval of 12 h at a single dose of 2000 mg/m <sup>2</sup>                            |
| Этопозид<br>Etoposide                                                                         | Внутривенно за 1 ч<br>Intravenous, over 1 h                                                                                                          | 3–5                                                                                                              | 3 введения с интервалом в 24 ч в разовой дозе 150 мг/м <sup>2</sup><br>3 injections with an interval of 24 h at a single dose of 150 mg/m <sup>2</sup>                              |
| L-аспарагиназа<br>L-asparaginase                                                              | Внутримышечно<br>Intramuscular                                                                                                                       | 6                                                                                                                | 10 000 Ед/м <sup>2</sup><br>10 000 U/m <sup>2</sup>                                                                                                                                 |
| Метотрексат +<br>цитарабин +<br>преднизолон<br>Methotrexate +<br>cytarabine +<br>prednisolone | Инtrateкально совместно**<br>Intrathecal coadministration**                                                                                          | 5                                                                                                                | 6/8/10/12 мг<br>20/30/40/50 мг<br>6/8/10/12 мг<br>20/30/40/50 мг<br>6/8/10/12 мг                                                                                                    |

Примечание. \* – контроль концентрации препарата в крови на 42-й и 48-й часы от начала введения с обязательным введением 5 доз лейковорина по 15 мг/м<sup>2</sup> на 42, 48, 54, 60 и 66-й часы с коррекцией доз и длительности введения по результатам определения концентрации метотрексата в крови;  
\*\* – дозы препаратов приведены в зависимости от возраста в следующем порядке: менее 1 года, от 1 года до 2 лет, от 2 лет до 3 лет, старше 3 лет  
Note. \* – monitoring of blood drug concentration at 42 and 48 hours after the start of administration with the obligatory administration of leucovorin (5 doses of 15 mg/m<sup>2</sup>) at 42, 48, 54, 60 and 66 hours with the adjustment of doses and duration of infusion according to the results of blood methotrexate concentration monitoring; \*\* – the doses of medications are given in the table according to age in the following order: < 1 year, 1 – 2 years, 2 – 3 years, > 3 years

Таблица 3

Инициальные характеристики пациентов ГВР, включенных в протокол ALL-MB 2002

Table 3

The initial characteristics of the HRG patients included in the ALL-MB 2002 protocol

| Показатель<br>Parameter                                            |                                                                    | В целом по<br>группе, n (%)<br>In the whole group,<br>n (%) | Пациенты, не<br>достигшие<br>ремиссии на 36-й<br>день, n (%)<br>Patients who did not<br>achieve remission on<br>day 36, n (%) | Пациенты с<br>t(9;22), n (%)<br>Patients with<br>t(9;22), n (%) | Пациенты с<br>t(4;11), n (%)<br>Patients with<br>t(4;11), n (%) |
|--------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Всего<br>Total number of patients                                  |                                                                    | 110 (100)                                                   | 70 (63,64)                                                                                                                    | 29 (26,36)                                                      | 11 (10)                                                         |
| Пол<br>Gender                                                      | Мальчики<br>Boys                                                   | 59 (53,64)                                                  | 41 (58,57)                                                                                                                    | 12 (41,38)                                                      | 6 (54,55)                                                       |
|                                                                    | Девочки<br>Girls                                                   | 51 (46,36)                                                  | 29 (41,43)                                                                                                                    | 17 (58,62)                                                      | 5 (45,45)                                                       |
| Возраст<br>Age                                                     | < 10 лет<br>< 10 years                                             | 60 (54,54)                                                  | 36 (51,43)                                                                                                                    | 19 (65,52)                                                      | 5 (45,45)                                                       |
|                                                                    | ≥ 10 лет<br>≥ 10 years                                             | 50 (45,45)                                                  | 34 (48,57)                                                                                                                    | 10 (34,48)                                                      | 6 (54,55)                                                       |
|                                                                    | Медиана<br>Median                                                  | 9,43                                                        | 9,82                                                                                                                          | 7,68                                                            | 10,61                                                           |
| Инициальный лейкоцитоз<br>Initial WBC count                        | < 10 × 10 <sup>9</sup> /л<br>< 10 × 10 <sup>9</sup> /L             | 37 (33,64)                                                  | 23 (32,86)                                                                                                                    | 11 (37,93)                                                      | 3 (27,27)                                                       |
|                                                                    | ≥ 10 < 50 × 10 <sup>9</sup> /л<br>≥ 10 < 50 × 10 <sup>9</sup> /L   | 24 (21,82)                                                  | 13 (18,57)                                                                                                                    | 9 (31,03)                                                       | 2 (18,18)                                                       |
|                                                                    | ≥ 50 < 100 × 10 <sup>9</sup> /л<br>≥ 50 < 100 × 10 <sup>9</sup> /L | 18 (16,36)                                                  | 13 (18,57)                                                                                                                    | 3 (10,34)                                                       | 2 (18,18)                                                       |
|                                                                    | ≥ 100 × 10 <sup>9</sup> /л<br>≥ 100 × 10 <sup>9</sup> /L           | 31 (28,18)                                                  | 21 (30)                                                                                                                       | 6 (20,69)                                                       | 4 (36,36)                                                       |
|                                                                    | Медиана*<br>Median*                                                | 35,6                                                        | 44,85                                                                                                                         | 21,6                                                            | 91,0                                                            |
| Иммунофенотип бластных<br>клеток<br>Immunophenotype of blast cells | Не исследовался<br>Was not determined                              | 9 (8,18)                                                    | 8 (11,43)                                                                                                                     | 0                                                               | 1 (9,09)                                                        |
|                                                                    | ВП-ОЛЛ<br>B-cell precursor ALL (BCP-ALL)                           | 63 (57,27)                                                  | 25 (35,71)                                                                                                                    | 28 (96,55)                                                      | 10 (90,9)                                                       |
|                                                                    | Т-ОЛЛ<br>T-ALL                                                     | 38 (34,55)                                                  | 37 (52,86)                                                                                                                    | 1 (3,45)                                                        | 0                                                               |
| Селезенка<br>Spleen                                                | < 4 см<br>< 4 cm                                                   | 58 (52,73)                                                  | 37 (52,86)                                                                                                                    | 15 (51,72)                                                      | 6 (54,55)                                                       |
|                                                                    | ≥ 4 см<br>≥ 4 cm                                                   | 52 (47,27)                                                  | 33 (47,14)                                                                                                                    | 14 (48,28)                                                      | 5 (45,45)                                                       |
| Поражение ЦНС<br>CNS involvement                                   | Нет данных<br>No data available                                    | 1 (0,91)                                                    | 0                                                                                                                             | 1 (3,45)                                                        | 0                                                               |
|                                                                    | Нет<br>No                                                          | 100 (90,91)                                                 | 61 (87,14)                                                                                                                    | 28 (96,55)                                                      | 11 (100)                                                        |
|                                                                    | Есть<br>Yes                                                        | 9 (8,18)                                                    | 9 (12,86)                                                                                                                     | 0                                                               | 0                                                               |
| Поражение средостения<br>Mediastinal involvement                   | Нет<br>No                                                          | 92 (83,64)                                                  | 52 (74,29)                                                                                                                    | 29 (100)                                                        | 11 (100)                                                        |
|                                                                    | Есть<br>Yes                                                        | 18 (16,36)                                                  | 18 (25,71)                                                                                                                    | 0                                                               | 0                                                               |

было (8,9 года против 10,3 года соответственно). Медиана инициального лейкоцитоза составила 35,6 (0,7–960) × 10<sup>9</sup>/л, достоверной разницы между мальчиками и девочками обнаружено не было (47,4 × 10<sup>9</sup>/л против 21,6 × 10<sup>9</sup>/л соответственно).

Исследование иммунофенотипа бластных клеток было проведено у 52 (88,14%) мальчиков и 49 (96,08%) девочек. Обнаружено преобладание у девочек В-линейного фенотипа (73,47% среди всех обследованных), в то время как у мальчиков линейная принадлежность бластных клеток распределилась практически поровну (51,92% – В-линейный и 48,08% – Т-линейный), данное различие носило достоверный характер ( $p = 0,0255$ ). Поражение ЦНС обнаружено у 6,9% мальчиков и 9,8% девочек, а вовлечение средостения – у 18,64% мальчиков и

13,73% девочек (достоверных различий нет). Увеличение пальпаторных размеров селезенки ≥ 4 см от края реберной дуги отмечено у 52,54% мальчиков и 41,18% девочек, различия также не носили достоверный характер. Таким образом, по большинству сравниваемых признаков достоверных различий в зависимости от пола обнаружено не было.

Исследование наличия генетических аномалий было проведено у 47 (67,14%) пациентов из 70, составивших подгруппу «не ответившие на 36-й день» и переведенных в ГВР по окончании индукции. Отсутствие аномалий подтверждено у 32 (68,09%) больных из 47 обследованных. У 1 (2,12%) пациентки обнаружена транслокация t(12;21). Другие нестратифицирующие молекулярно-генетические или хромосомные



аномалии были описаны у 14 (29,79%) больных, среди которых были 8 мальчиков (все с Т-клеточным ОЛЛ (Т-ОЛЛ)) и 6 девочек (3 – с ОЛЛ из В-клеток-предшественников (ВП-ОЛЛ), 3 – с Т-ОЛЛ).

### Результаты терапии

Результаты терапии всех пациентов ГВР протокола ALL-MB 2002 приведены в таблице 4 и на рисунке 2.

В целом по группе первой ПР достигли 80,9% пациентов (медиана сроков достижения ремиссии составила 56 дней), количество неудач индукции (смерть в индукции и первичная рефрактерность) составило 19,09%. Достоверных различий в ответах между мальчиками и девочками получено не было. Плохой ответ на 8-й день индукции с числом бластных клеток в крови 1000/мкл и более имели 37 (34,58%) пациентов, 66 (62,26%) больных – 10%

**Таблица 4**  
Результаты терапии пациентов ГВР

**Table 4**  
Treatment results of the HRG patients

| Событие<br>Event                                                                                                                                                  | В целом по группе<br>In the whole group | Пациенты с t(9;22)<br>Patients with t(9;22) | Пациенты с t(4;11)<br>Patients with t(4;11) | Пациенты, не достигшие ремиссии на 36-й день<br>Patients who did not achieve remission on day 36 | p      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Всего, n (%)<br>Total number of patients, n (%)                                                                                                                   | 110 (100)                               | 29 (26,36)                                  | 11 (10)                                     | 70 (63,64)                                                                                       | –      |
| Смерть в индукции, n (%)<br>Death in induction, n (%)                                                                                                             | 10 (9,09)                               | 3 (10,34)                                   | 1 (9,09)                                    | 6 (8,57)                                                                                         | 0,7799 |
| Первичная рефрактерность, n (%)<br>Primary refractory disease, n (%)                                                                                              | 11 (10)                                 | 0                                           | 1 (9,09)                                    | 10 (14,29)                                                                                       | 0,0318 |
| Доля больных с бластами в ПК на 8-й день $\geq 1000/\mu\text{L}$ , n (%)<br>The number of patients with blasts in the PB on day 8 $\geq 1000/\mu\text{L}$ , n (%) | 37 (34,58)                              | 3 (10,71)                                   | 2 (20)                                      | 32 (46,38)                                                                                       | 0,0008 |
| Доля больных с бластами в КМ на 15-й день $\geq 10\%$ , n (%)<br>The number of patients with blasts in the BM on day 15 $\geq 10\%$ , n (%)                       | 66 (62,26)                              | 9 (32,14)                                   | 1 (10)                                      | 56 (82,35)                                                                                       | 0,0003 |
| Доля больных с МЗ-статусом в КМ на 36-й день, n (%)<br>The number of patients with M3 marrow status on day 36, n (%)                                              | 24 (22,86)                              | 1 (3,7)                                     | 1 (10)                                      | 22 (32,35)                                                                                       | 0,0027 |
| Достигли ПР, n (%)<br>The number of patients who achieved CR, n (%)                                                                                               | 89 (80,91)                              | 26 (89,66)                                  | 9 (81,82)                                   | 54 (77,14)                                                                                       | 0,1502 |
| Смерть в ремиссии, n (%)<br>Death in remission, n (%)                                                                                                             | 13 (11,82)                              | 6 (20,69)                                   | 2 (18,18)                                   | 5 (7,14)                                                                                         | 0,0509 |
| Вторая опухоль, n (%)<br>Second tumor, n (%)                                                                                                                      | 0                                       | 0                                           | 0                                           | 0                                                                                                | –      |
| Потеряны из-под наблюдения, n (%)<br>Lost to follow-up, n (%)                                                                                                     | 6 (5,45)                                | 4 (13,79)                                   | 0                                           | 2 (2,86)                                                                                         | 0,0379 |
| Рецидив, n (%):<br>Relapse, n (%):                                                                                                                                | 41 (37,27)                              | 9 (31,03)                                   | 2 (18,18)                                   | 30 (42,86)                                                                                       | 0,1196 |
| изолированный КМ<br>isolated BM relapse                                                                                                                           | 30 (27,27)                              | 6 (20,69)                                   | 2 (18,18)                                   | 22 (31,43)                                                                                       | 0,3711 |
| изолированный ЦНС<br>isolated CNS relapse                                                                                                                         | 5 (4,55)                                | 2 (6,9)                                     | 0                                           | 3 (4,29)                                                                                         | 0,3715 |
| комбинированный<br>combined relapse                                                                                                                               | 5 (4,55)                                | 0                                           | 0                                           | 5 (7,14)                                                                                         | 0,1397 |
| очень ранний<br>very early relapse                                                                                                                                | 21 (51,22)                              | 3 (33,3)                                    | 2 (100)                                     | 16 (53,33)                                                                                       | 0,2924 |
| ранний<br>early relapse                                                                                                                                           | 11 (26,83)                              | 3 (33,3)                                    | 0                                           | 8 (26,67)                                                                                        | 0,6967 |
| поздний<br>late relapse                                                                                                                                           | 9 (21,95)                               | 3 (33,3)                                    | 0                                           | 6 (20)                                                                                           | 0,4050 |
| Находятся в ППР, n (%)<br>Patients who are in the first continuous complete remission (CCR), n (%)                                                                | 29 (26,36)                              | 7 (24,1%)                                   | 5 (45,45)                                   | 17 (24,29)                                                                                       | 0,1423 |
| Медиана наблюдения, дни<br>Median follow-up, days                                                                                                                 | 3792                                    | 3792                                        | 4562                                        | 3926                                                                                             | 0,5879 |
| ОВ, %<br>OS, %                                                                                                                                                    | 32,9 $\pm$ 4,6                          | 35,4 $\pm$ 9,3                              | 54,5 $\pm$ 15,0                             | 29,1 $\pm$ 5,6                                                                                   | 0,6190 |
| БСВ, %<br>EFS, %                                                                                                                                                  | 31,5 $\pm$ 4,5                          | 36,3 $\pm$ 9,2                              | 45,5 $\pm$ 15,0                             | 27,1 $\pm$ 5,3                                                                                   | 0,4390 |
| КРР, %<br>Cumulative risk of relapse, %                                                                                                                           | 37,6 $\pm$ 4,3                          | 32,7 $\pm$ 8,5                              | 18,2 $\pm$ 11,3                             | 42,9 $\pm$ 5,2                                                                                   | 0,2790 |
| КРЛ, %<br>Cumulative risk of treatment-related mortality, %                                                                                                       | 20,9 $\pm$ 3,8                          | 31,0 $\pm$ 8,6                              | 27,3 $\pm$ 13,2                             | 15,7 $\pm$ 4,3                                                                                   | 0,2060 |
| Кумулятивный риск развития рефрактерности, %<br>Cumulative risk of refractory disease, %                                                                          | 10,0 $\pm$ 2,9                          | 0                                           | 9,1 $\pm$ 8,7                               | 14,3 $\pm$ 4,2                                                                                   | 0,1000 |
| ТГСК+<br>HSCT+                                                                                                                                                    | 14 (15,7)                               | 5 (17,2)                                    | 0                                           | 9 (12,9)                                                                                         | 0,5688 |

Примечание. ПК – периферическая кровь; ТГСК+ – число пациентов, перенесших ТГСК.

Note. PB – peripheral blood; BM – bone marrow; CR – complete remission; HSCT+ – a number of patients who underwent HSCT.

бластных клеток в КМ и более на 15-й день индукции и 24 (22,86%) – более 25% бластных клеток на 36-й день (МЗ-статус).

Рецидивы развились более чем у трети пациентов (37,27%). Более половины (51,22%) из них составили очень ранние, 73% были изолированными костно-мозговыми рецидивами. Уровень изолированных рецидивов в ЦНС составил 4,55%. Среди больных с рецидивами на момент закрытия базы данных в живых оставались только 2 человека. ОВ пациентов с рецидивом составила только 7,7% (95% доверительный интервал 0–16,1) с медианой длительности жизни после рецидива всего 187 дней. Чуть более четверти всех больных ГВР (26,36%) остаются в ПППР с медианой длительности наблюдения 10,8 года на момент последней оценки базы данных. За все время наблюдения среди пациентов ГВР ни одной второй опухоли отмечено не было, 5,45% больных были потеряны из-под наблюдения. Аллогенная ТГСК была проведена 15,7% пациентов, достигших ПР.

В целом ОВ для пациентов ГВР протокола ALL-MB 2002 составила  $32,9 \pm 4,6\%$ , БСВ –  $31,5 \pm 4,5\%$  (рисунк 2). CIR и CID –  $37,6 \pm 4,3\%$  и  $20,9 \pm 3,8\%$  соответственно (рисунк 3).

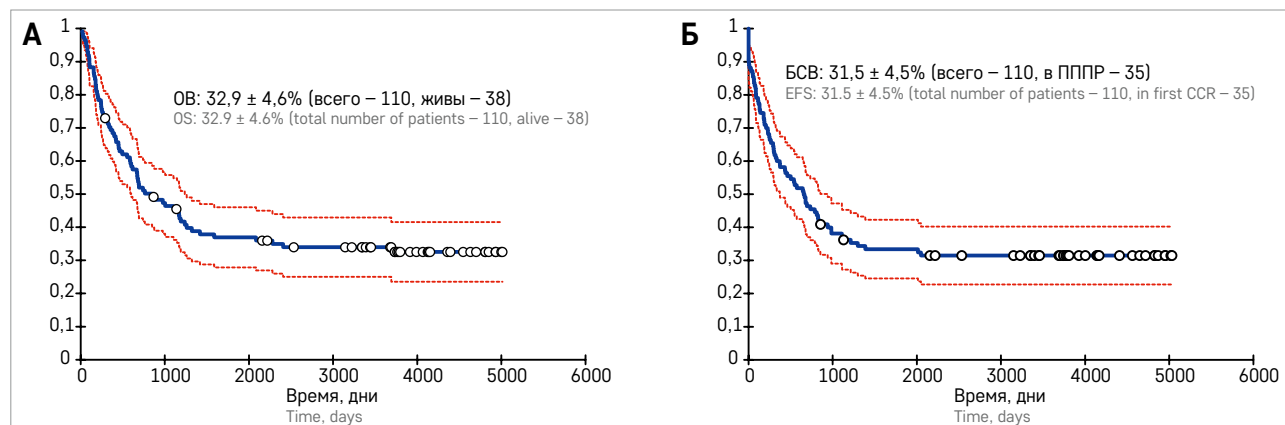
Анализ результатов терапии в целом по ГВР в зависимости от пола пациентов не обнаружил достоверных различий в частотах ответа и выживаемости (таблица 5).

При анализе различий ответов в зависимости от возраста (таблица 6) показано, что пациенты старше 10 лет имели худшие результаты терапии. Так, достоверно более часто больные старше 10 лет имели первичную рефрактерность к терапии (18% против 5% среди пациентов младше 10 лет) при сопоставимой индукционной летальности, что приводило к достоверно более низкой частоте достижения первой ПР (74% против 86,7%). Более высокой также была смертность в ремиссии (20% против 5%). Зато уровень рецидивов у пациентов старше 10 лет оказался достоверно более низким, что в итоге

**Рисунок 2**  
ОВ (А) и БСВ (Б) пациентов ГВР, включенных в протокол ALL-MB 2002

**Figure 2**

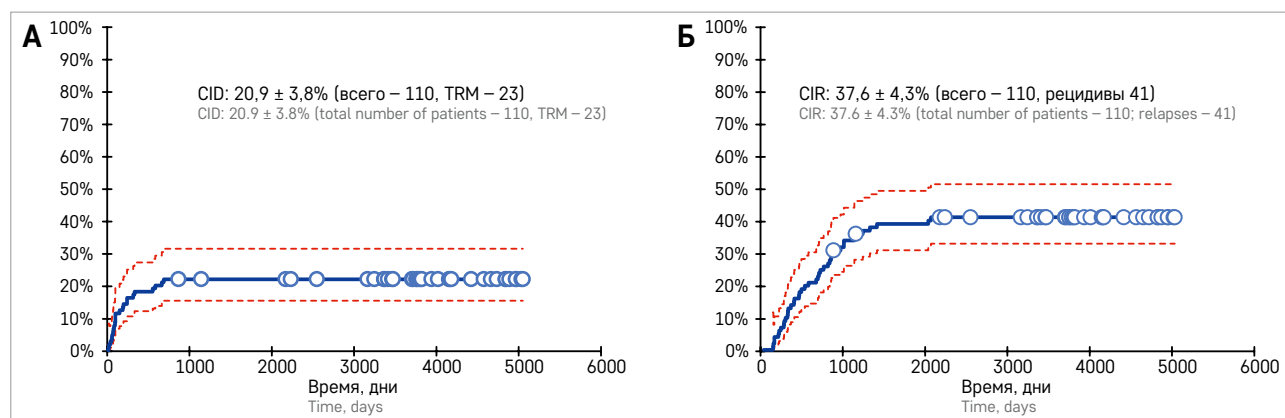
A – overall survival (OS) and Б – event-free survival (EFS) in the high-risk group patients enrolled in the ALL-MB 2002 protocol



**Рисунок 3**  
CID (А) и CIR (Б) пациентов ГВР, включенных в протокол ALL-MB 2002  
TRM – смертность, связанная с лечением

**Figure 3**

Cumulative risks: A – the cumulative incidence of death (CID) during treatment and Б – the cumulative incidence of relapse (CIR) among high-risk patients enrolled in the ALL-MB 2002 protocol  
TRM, treatment-related mortality



привело к сопоставимой частоте нахождения в ПППР между пациентами старше и младше 10-летнего возраста.

ОВ и БСВ пациентов младше 10 лет составили  $34,4 \pm 6,2\%$  и  $33,1 \pm 6,1\%$  соответственно, больных 10 лет и старше –  $31,1 \pm 7,0\%$  и  $29,6 \pm 6,5\%$  соответственно (различия не достоверны). CIR и CID для

пациентов младше 10 лет составили  $48,6 \pm 5,9\%$  и  $13,3 \pm 4,4\%$  соответственно, а для больных 10 лет и старше –  $24,4 \pm 5,7\%$  и  $30,0 \pm 6,2\%$  соответственно (различия достоверны) (таблица 5).

При сравнении результатов лечения между пациентами с Т-ОЛЛ и ВП-ОЛЛ было показано, что больные ВП-ОЛЛ имели в целом лучший ранний

Таблица 5

Результаты терапии пациентов ГВР, включенных в протокол ALL-MB 2002, в зависимости от инициальных характеристик и раннего ответа на терапию

Table 5

Treatment results of the HRG patients included in the ALL-MB 2002 protocol according to the initial characteristics and early response to treatment

| Показатель<br>Parameter                                                                                              | n                                                                            | %   | БСВ, %<br>EFS, % | $p_{\log\text{-rank}}$ | ОВ, %<br>OS, %       | $p_{\log\text{-rank}}$ | CIR, %          | $p_{\text{Gray test}}$ | CID, %          | $p_{\text{Gray test}}$ |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-----|------------------|------------------------|----------------------|------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|------------------------|
| Всего<br>Total number of patients                                                                                    | 110                                                                          | 100 | $31,5 \pm 4,5$   | –                      | $32,9 \pm 4,6$       | –                      | $37,6 \pm 4,3$  | –                      | $20,9 \pm 3,8$  | –                      |
| Пол<br>Gender                                                                                                        | Мальчики<br>Boys                                                             | 59  | 53,6             | 0,654                  | $27,3 \pm 6,1$       | 0,465                  | $39,0 \pm 5,9$  | 0,760                  | $20,3 \pm 5,1$  | 0,774                  |
|                                                                                                                      | Девочки<br>Girls                                                             | 51  | 46,4             |                        | $39,4 \pm 7,0$       |                        | $36,0 \pm 6,1$  |                        | $21,6 \pm 5,7$  |                        |
| Возраст<br>Age                                                                                                       | < 10 лет<br>< 10 years                                                       | 60  | 54,5             | 0,378                  | $34,4 \pm 6,2$       | 0,507                  | $48,6 \pm 5,9$  | 0,010                  | $13,3 \pm 4,4$  | 0,047                  |
|                                                                                                                      | ≥ 10 лет<br>≥ 10 years                                                       | 50  | 45,5             |                        | $31,1 \pm 7,0$       |                        | $24,4 \pm 5,7$  |                        | $30,0 \pm 6,2$  |                        |
| Инициальный лейкоцитоз<br>Initial WBC count                                                                          | < $10 \times 10^9/\text{л}$<br>< $10 \times 10^9/\text{L}$                   | 37  | 33,6             | 0,064                  | $37,5 \pm 8,0$       | 0,228                  | $27,0 \pm 6,9$  | 0,159                  | $35,1 \pm 7,8$  | 0,035                  |
|                                                                                                                      | ≥ 10 и < $50 \times 10^9/\text{л}$<br>≥ 10 and < $50 \times 10^9/\text{L}$   | 24  | 21,8             |                        | $49,1 \pm 10,4^{\#}$ |                        | $33,7 \pm 9,2$  |                        | $4,2 \pm 4,6$   |                        |
|                                                                                                                      | ≥ 50 и < $100 \times 10^9/\text{л}$<br>≥ 50 and < $100 \times 10^9/\text{L}$ | 18  | 16,4             |                        | $22,2 \pm 9,8$       |                        | $44,4 \pm 10,3$ |                        | $22,2 \pm 9,5$  |                        |
|                                                                                                                      | ≥ $100 \times 10^9/\text{л}$<br>≥ $100 \times 10^9/\text{L}$                 | 31  | 28,2             |                        | $20,6 \pm 8,0^{\#}$  |                        | $48,8 \pm 7,7$  |                        | $16,1 \pm 6,5$  |                        |
| Поражение ЦНС<br>CNS involvement                                                                                     | Нет<br>No                                                                    | 100 | 90,9             | 0,840                  | $33,2 \pm 4,9$       | 0,892                  | $36,3 \pm 4,5$  | 0,687                  | $21,0 \pm 4,0$  | 0,961                  |
|                                                                                                                      | Есть<br>Yes                                                                  | 9   | 8,2              |                        | $33,3 \pm 15,7$      |                        | $44,4 \pm 12,8$ |                        | $22,2 \pm 13,6$ |                        |
| Иммунофенотип<br>Immunophenotype                                                                                     | Не-Т-ОЛЛ<br>Non-T-ALL                                                        | 63  | 57,3             | 0,862                  | $36,3 \pm 6,2$       | 0,930                  | $27,6 \pm 5,3$  | 0,034                  | $30,2 \pm 5,7$  | 0,017                  |
|                                                                                                                      | Т-ОЛЛ<br>T-ALL                                                               | 38  | 34,5             |                        | $25,3 \pm 8,3$       |                        | $50,0 \pm 7,5$  |                        | $10,5 \pm 4,9$  |                        |
|                                                                                                                      | Не исследовался<br>Was not determined                                        | 9   | 8,2              |                        | $33,3 \pm 15,7$      |                        | $55,6 \pm 13,3$ |                        | 0               |                        |
| Селезенка<br>Spleen                                                                                                  | < 4 см<br>< 4 cm                                                             | 58  | 52,7             | 0,031                  | $43,5 \pm 6,6$       | 0,010                  | $34,7 \pm 5,9$  | 0,411                  | $17,2 \pm 4,9$  | 0,310                  |
|                                                                                                                      | ≥ 4 см<br>≥ 4 cm                                                             | 52  | 47,3             |                        | $21,3 \pm 6,0$       |                        | $40,8 \pm 6,0$  |                        | $25,0 \pm 5,9$  |                        |
| Количество бластных клеток в крови на 8-й день терапии<br>Blast count in blood on day 8 of treatment                 | < $1000 \times 10^9/\text{мкл}$<br>< $1000 \times 10^9/\mu\text{L}$          | 70  | 63,6             | 0,001                  | $44,9 \pm 6,0$       | 0,004                  | $30,5 \pm 5,3$  | 0,011                  | $22,2 \pm 5,0$  | 0,247                  |
|                                                                                                                      | ≥ $1000 \times 10^9/\text{мкл}$<br>≥ $1000 \times 10^9/\mu\text{L}$          | 37  | 33,6             |                        | $12,6 \pm 5,9$       |                        | $54,1 \pm 6,5$  |                        | $13,5 \pm 5,5$  |                        |
| Количество бластных клеток в костном мозге на 15-й день терапии<br>Blast count in bone marrow on day 15 of treatment | < 10                                                                         | 40  | 36,4             | 0,032                  | $53,8 \pm 8,0$       | 0,008                  | $22,9 \pm 6,5$  | 0,013                  | $25,0 \pm 6,8$  | 0,309                  |
|                                                                                                                      | ≥ 10                                                                         | 66  | 60,0             |                        | $22,5 \pm 5,4$       |                        | $47,4 \pm 5,4$  |                        | $16,7 \pm 4,5$  |                        |
| Количество бластных клеток в КМ на 36-й день терапии<br>Blast count in bone marrow on day 36 of treatment            | M1 (< 5%)                                                                    | 48  | 45,7             | 0,012                  | $52,5 \pm 7,4$       | 0,011                  | $29,7 \pm 6,6$  | 0,227                  | $18,8 \pm 5,6$  | 0,001                  |
|                                                                                                                      | M2 (≥ 5% < 25%)                                                              | 33  | 31,4             |                        | $26,9 \pm 7,8$       |                        | $51,5 \pm 7,1$  |                        | $9,1 \pm 5,0$   |                        |
|                                                                                                                      | M3 (≥ 25%)                                                                   | 24  | 22,8             |                        | $8,3 \pm 7,0$        |                        | $37,5 \pm 7,5$  |                        | $33,3 \pm 9,1$  |                        |
| Стероид в индукции<br>Steroid in induction                                                                           | Dexa                                                                         | 59  | 53,6             | 0,225                  | $30,9 \pm 6,5$       | 0,323                  | $44,3 \pm 5,7$  | 0,200                  | $13,6 \pm 4,4$  | 0,050                  |
|                                                                                                                      | Medrol, 60 мг/м <sup>2</sup><br>Medrol, 60 mg/m <sup>2</sup>                 | 42  | 38,2             |                        | $30,2 \pm 7,2$       |                        | $29,2 \pm 6,7$  |                        | $33,3 \pm 7,1$  |                        |
|                                                                                                                      | Medrol, 120 мг/м <sup>2</sup><br>Medrol, 120 mg/m <sup>2</sup>               | 9   | 8,2              |                        | $55,6 \pm 16,6$      |                        | $33,3 \pm 15,2$ |                        | $11,1 \pm 10,5$ |                        |

Примечание. \* – между этими значениями обнаружена достоверная разница,  $p = 0,029$ ; # – между этими значениями обнаружена близкая к достоверной разница,  $p = 0,059$ .

Note. \* – a significant difference was found between these values,  $p = 0,029$ ; # – a close to significant difference was found between these values,  $p = 0,059$ .

ответ на терапию индукции при почти достоверно более высокой индукционной летальности (14,3% против 2,6% у пациентов с Т-ОЛЛ). Кроме того, пациенты с ВП-ОЛЛ имели достоверно более низкий уровень рецидивов по сравнению с больными Т-ОЛЛ (27% против 50% соответственно). Однако число пациентов, находящихся в ППР, было практически одинаковым с Т- и В-линейными фенотипами (26,1% и 30,2% соответственно) (таблица 6).

ОВ и БСВ пациентов с ВП-ОЛЛ составили  $36,3 \pm 6,2\%$  и  $34,4 \pm 6,0\%$  соответственно, детей с Т-ОЛЛ –  $25,3 \pm 8,3\%$  и  $28,9 \pm 7,4\%$  соответственно (различия не достоверны). CIR и CID для пациентов с

Т-ОЛЛ составили  $50,0 \pm 7,5\%$  и  $10,5 \pm 4,9\%$  соответственно, а для пациентов с ВП-ОЛЛ –  $27,6 \pm 5,3\%$  и  $30,2 \pm 5,7\%$  соответственно (различия достоверны) (таблица 5).

Такие показатели, как инициальный лейкоцитоз и размеры селезенки, характеризующие массу опухоли, также непосредственно влияют на прогноз. Пациенты с уровнем лейкоцитов  $50 \times 10^9/\text{л}$  и более  $100 \times 10^9/\text{л}$  имеют в 2 раза более низкие показатели ОВ и БСВ, нежели больные с лейкоцитозом менее  $50 \times 10^9/\text{л}$ . По мере нарастания лейкоцитоза растет CIR, однако достоверных значений различия не достигают. Практически аналогично ведут себя ОВ и БСВ и

Таблица 6

Результаты терапии пациентов ГВР, включенных в протокол ALL-MB 2002, в зависимости от возраста и иммунофенотипа бластных клеток

Table 6

Treatment results of the HRG patients included in the ALL-MB 2002 protocol according to the age and blast cell immunophenotype

| Показатель ответа<br>Response parameter                                                                                                                                                                                   | < 10 лет<br>< 10 years | ≥ 10 лет<br>≥ 10 years | p      | Т-ОЛЛ<br>T-ALL | ВП-ОЛЛ<br>BCP-ALL | p      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|------------------------|--------|----------------|-------------------|--------|
| Всего, n (%)<br>Total number of patients, n (%)                                                                                                                                                                           | 60 (100,0)             | 50 (100,0)             |        | 38 (100)       | 63 (100,0)        |        |
| Ответ на 8-й день: медиана количества бластных клеток в 1 мкл ПК, %<br>Response on day 8: median blast count per 1 µl of PB, %                                                                                            | 22                     | 640                    | 0,1501 | 2490           | 0                 | 0,0000 |
| Ответ на 8-й день: число больных, имеющих менее 1000 бластных клеток в 1 мкл, n (%)<br>Response on day 8: the number of patients with <1000 blasts/µL, n (%)                                                              | 41 (70,7)              | 29 (59,2)              | 0,2125 | 16 (42,1)      | 48 (80)           | 0,0001 |
| Ответ на 15-й день: медиана количества бластных клеток в КМ, %<br>Response on day 15: median bone marrow blast count, %                                                                                                   | 24,6                   | 34,6                   | 0,8343 | 57             | 8,1               | 0,0000 |
| Ответ на 15-й день: число больных, имеющих менее 10% бластных клеток, n (%)<br>Response on day 15: the number of patients with blasts < 10%, n (%)                                                                        | 22 (38,6)              | 18 (36,7)              | 0,8437 | 5 (13,5)       | 31 (51,7)         | 0,0002 |
| Ответ на 36-й день: медиана количества бластных клеток в КМ, %<br>Response on day 36: median bone marrow blast count, %                                                                                                   | 4,0                    | 10,0                   | 0,0569 | 15             | 1,4               | 0,0000 |
| Ответ на 36-й день: число больных с M1- статусом (достигли ремиссии, бластных клеток < 5%), n (%)<br>Response on day 36: the number of patients with M1 status (patients who achieved remission, with blasts < 5%), n (%) | 30 (53,6)              | 18 (36,7)              | 0,0840 | 6 (16,2)       | 38 (64,4)         | 0,0000 |
| Ответ на 36-й день: число больных с M2-статусом (бластных клеток от 5 до 25%), n (%)<br>Response on day 36: the number of patients with M2 status (5 - 25% blasts), n (%)                                                 | 16 (28,6)              | 17 (34,7)              | 0,5002 | 17 (45,9)      | 13 (22,0)         | 0,0139 |
| Ответ на 36-й день: число больных с M3-статусом (бластных клеток более 25%), n (%)<br>Response on day 36: the number of patients with M3 status (> 25% blasts), n (%)                                                     | 10 (17,9)              | 14 (28,6)              | 0,1921 | 14 (37,8)      | 8 (13,6)          | 0,0059 |
| Первичная рефрактерность, n (%)<br>Primary refractory disease, n (%)                                                                                                                                                      | 3 (5,0)                | 9 (18,0)               | 0,0294 | 4 (10,5)       | 5 (7,9)           | 0,6581 |
| Смерть в индукции, n (%)<br>Death in induction, n (%)                                                                                                                                                                     | 5 (8,3)                | 5 (10,0)               | 0,7621 | 1 (2,6)        | 9 (14,3)          | 0,0575 |
| Медиана сроков смерти в индукции, дни<br>Median time to death in induction, days                                                                                                                                          | 29                     | 83                     | 0,0122 | 83             | 50                | –      |
| Число пациентов, достигших первой ПР, n (%)<br>The number of patients who achieved a first complete remission, n (%)                                                                                                      | 52 (86,7)              | 37 (74,0)              | 0,0052 | 33 (86,8)      | 49 (77,8)         | 0,2588 |
| Медиана сроков достижения ремиссии, дни<br>Median time to remission, days                                                                                                                                                 | 46,5                   | 64                     | 0,0123 | 69,5           | 38                | 0,0000 |
| Смерть в ремиссии, n (%)<br>Death in remission, n (%)                                                                                                                                                                     | 3 (5,0)                | 10 (20,0)              | 0,0152 | 3 (7,9)        | 10 (15,9)         | 0,2461 |
| Медиана сроков смерти в ремиссии, годы<br>Median time to death in remission, years                                                                                                                                        | 0,63                   | 0,73                   | 0,9326 | 0,63           | 0,73              | 0,6000 |
| Потеряны из-под наблюдения, n (%)<br>Lost to follow-up, n (%)                                                                                                                                                             | 3 (5,0)                | 3 (6,0)                | 0,8181 | 3 (7,9)        | 3 (4,8)           | 0,5188 |
| Вторая опухоль<br>Second tumor                                                                                                                                                                                            | 0                      | 0                      | –      | 0              | 0                 | –      |
| Рецидивы, n (%)<br>Relapses, n (%)                                                                                                                                                                                        | 29 (48,3)              | 12 (24,0)              | 0,0086 | 19 (50,0)      | 17 (27,0)         | 0,0193 |
| Медиана сроков рецидива, месяцы<br>Median time to relapse, months                                                                                                                                                         | 16,7                   | 23,8                   | 0,3655 | 15,4           | 22,6              | 0,2428 |
| Находятся в ППР, n (%)<br>Patients in the first CCR, n (%)                                                                                                                                                                | 17 (28,3)              | 12 (24,0)              | 0,6075 | 8 (26,1)       | 19 (30,2)         | 0,3165 |

в зависимости от размеров селезенки. Уровень CIR у пациентов в зависимости от размеров селезенки не отличается (таблица 5).

Достоверных различий в результатах терапии и показателях выживаемости, равно как и кумулятивных рисках у пациентов, имеющих инициальное вовлечение ЦНС и не имеющих такового, обнаружено не было.

Ранний ответ на терапию, определяемый по количеству бластных клеток на 8-й день индукции в крови и на 15-й день индукции в КМ, также имел прогностическое значение. Так, показатели ОБ и БСВ у пациентов с уровнем 1000 бластных клеток в 1 мкл ПК и более на 8-й день терапии были в 3 раза ниже таковых у больных с хорошим ответом на фор-фазу, а CIR и CID – в 2 раза хуже (различия достоверны) (таблица 5). Аналогичные показатели в зависимости от уровня бластных клеток менее и более 10% на 15-й день в миелограмме также были достоверно в 2 раза хуже у пациентов с более высоким бластозом. Еще более драматично отличались показатели ОБ и БСВ у больных в зависимости от уровня бластных клеток на 36-й день индукции – от  $8,3 \pm 7,0\%$  и  $12,5 \pm 6,8\%$  соответственно при уровне 25% бластных клеток и более до  $52,5 \pm 7,4\%$  и  $49,5 \pm 7,3\%$  соответственно при их уровне менее 5% (различия достоверны) (таблица 5).

Анализ различий в показателях выживаемости в зависимости от примененного в индукции глюкокортикоида, несмотря на более высокие показатели ОБ и БСВ в пользу метилпреднизолона в дозе  $120 \text{ мг/м}^2$ , выявил достоверные различия лишь при исследовании CID. При этом достоверно худшие результаты оказались при применении метилпреднизолона в дозе  $60 \text{ мг/м}^2$  (таблица 5).

#### **Различия в ответах и показателях выживаемости между подгруппами пациентов группы высокого риска**

ГВР в протоколе ALL-MB 2002 неоднородна по своей биологической природе и включала пациентов со стратифицирующими аномалиями, к которым относятся транслокации  $t(9;22)$  и  $t(4;11)$ , и больных без таких аномалий, не достигших ремиссии на 36-й день протокола индукции. Немногочисленность этих подгрупп обуславливает невозможность при большинстве видов анализа обнаружить достоверные различия между подгруппами по инициальным клинико-лабораторным показателям, частотным показателям ответов, ОБ и БСВ, CIR и CID (таблицы 3 и 4).

Тем не менее первичная рефрактерность достоверно реже отмечалась у пациентов с транслокацией  $t(9;22)$ . К сожалению, у них же была отмечена наибольшая летальность в ремиссии и потеря из-под наблюдения, очевидно, связанные с более частым

проведением у таких больных аллогенной ТГСК, в том числе в условиях клиник, не входивших в состав группы «Москва–Берлин». При Rh-позитивном ОЛЛ наблюдались также лучшие показатели раннего ответа, наименьшее число больных, не достигших ремиссии на 36-й день, и наибольшая доля пациентов, достигших первой ПР.

Уровень рецидивов между подгруппами достоверно не отличался, однако он был наименьшим у пациентов с ОЛЛ с транслокацией  $t(4;11)$  и наибольшим у не ответивших на 36-й день. В данных подгруппах преобладали ранние и очень ранние рецидивы, в то время как у пациентов с Rh-позитивным ОЛЛ рецидивы по частоте были распределены равномерно. Во всех подгруппах преобладали изолированные костномозговые рецидивы.

Наибольшее число пациентов, находящихся в ПППР, отмечено в группе ОЛЛ с транслокацией  $t(4;11)$ , наименьшее – в группе с Rh-позитивным ОЛЛ.

ОБ и БСВ были наибольшими у больных ОЛЛ с транслокацией  $t(4;11)$  –  $54,5 \pm 15\%$  и  $45,5 \pm 15\%$  соответственно, наименьшими – у пациентов без стратифицирующих аномалий, не достигших ремиссии на 36-й день, –  $29,1 \pm 5,6\%$  и  $27,1 \pm 5,3\%$  соответственно. CIR был максимальным у больных, не ответивших на терапию индукции ( $42,9 \pm 5,2\%$ ), а CID – у пациентов с Rh-позитивным ОЛЛ ( $31,0 \pm 8,6\%$ ).

#### **ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследование ALL-MB 2002 стало первым в линейке протоколов «Москва–Берлин», в котором была выделена ГВР, получившая свои стратификационные критерии и программу терапии. В исследовании ALL-MB 2002 приняли участие 36 клиник России и Республики Беларусь, что позволило начать отрабатывать интересные терапевтические концепции, правда, в основном в ГСР и ГПР. Что касается пациентов ГВР, то исследование впервые показало уровень ответов и выживаемость в данной когорте больных и позволило начать отрабатывать в мультицентровом формате высокоинтенсивную блоковую терапию. Результаты терапии в данной подгруппе оказались ниже в протоколе ALL-MB 2002, чем в зарубежных сопоставимых протоколах [18–22], что обусловлено отчасти очень высоким уровнем индукционной и ремиссионной летальности и низкой частотой проведения ТГСК как одной из наиболее эффективных опций, позволяющих консолидировать достигнутый на фоне высокодозной полихимиотерапии ответ [23]. Проблемой также являлось отсутствие возможности проведения дополнительных генетических исследований у данных больных и оценки уровня минимальной остаточной болезни в качестве интегрального показателя, позволяющего



выделить подгруппу больных, однозначно нуждающихся в ТГСК.

Наилучшие показатели ОВ в ГВР были достигнуты у пациентов с ОЛЛ старше 1 года с наличием транслокации  $t(4;11)$  –  $54,5 \pm 15,0\%$ . Однако на современном этапе такие показатели выживаемости никак не могут считаться удовлетворительными. В протоколе ALL-MB 2002 этим пациентам была предложена высокодозная химиотерапия без облигатной ТГСК. Очевидно, что полученные результаты нуждаются в улучшении, однако редкость данной формы ОЛЛ сильно затрудняет выработку специфических эффективных мероприятий. Работа с данными пациентами продолжится в ходе протокола ALL-MB 2008, но настоящие перспективы улучшения результатов появятся гораздо позже.

В целом скромные результаты терапии пациентов с Ph-позитивным ОЛЛ, несомненно, отражают недостаточные финансовые и логистические возможности мультицентровой группы организовать валидацию и мониторинг молекулярного транскрипта для выделения подгруппы больных, нуждающихся в дополнительной интенсификации терапии. Кроме этого, нельзя не отметить, что рутинная доступность главного медикамента для лечения данной формы ОЛЛ – ингибитора тирозинкиназы (ИТК) первого поколения иматиниба стала возможной только с 2005 г. и в ходе исследования ALL-MB 2002 половина пациентов данный препарат вовсе не получали, ограничиваясь высокодозной химиотерапией. По мере роста понимания места иматиниба, а затем и других ИТК, модификации режимов их применения результаты терапии пациентов с данной формой ОЛЛ будут улучшены уже в рамках исследования ALL-MB 2008.

Экстремально низкие показатели ОВ у больных ГВР протокола ALL-MB 2002, развивших рецидив, свидетельствуют о чрезвычайной важности разработки и оптимизации терапии первой линии у них, так как возможности терапии «спасения» весьма ограничены. Встречающийся в зарубежной литературе меткий термин “one way ticket” применительно к данным пациентам как нельзя лучше описывает драматичность этого участка исследований и терапии ОЛЛ. Феномен наличия худших ответов второй линии именно у пациентов протоколов «Москва–Берлин» также пока не нашел своего объяснения. Результаты исследования ALL-MB 2002 послужили основой для дальнейших исследований в рамках протоколов ALL-MB 2008 и ALL-MB 2015.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

#### ORCID

**Litvinov D.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7461-0050>  
**Myakova N.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>  
**Aleynikova O.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0143-1921>  
**Fechina L.G.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1885-3912>  
**Kondratchik K.L.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8729-2629>  
**Inyushkina E.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3888-9656>  
**Aslanyan K.S.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6067-446X>  
**Ryskal O.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0311-325X>  
**Zharikova L.I.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1105-8676>  
**Bydanov O.I.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3232-2322>  
**Lagoyko S.N.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3793-104X>  
**Rumyantseva Yu.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9670-3728>  
**Novichkova G.A.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>  
**Karachunskiy A.I.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9300-5198>

## Литература

- Schrapp M., Stanulla M. Treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. In: Treatment of acute leukemias. Pui C.-H. (ed.). Totowa, New Jersey: Humana Press; 2003.
- Pui C.-H., Robison L.L., Look A.T. Acute lymphoblastic leukemia. *Lancet* 2008; 371 (9617): 1030–43. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60457-2
- Inaba H., Pui C.-H. Advances in the diagnosis and treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Med* 2021; 10 (9): 1926. DOI: 10.3390/jcm10091926
- Vrooman L.M., Silverman L.B. Treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia: prognostic factors and clinical advances. *Curr Hematol Malig Rep* 2016; 11 (5): 385–94. DOI: 10.1007/s11899-016-0337-y
- Inaba H., Mullighan C.G. Pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2020; 105 (11): 2524–39. DOI: 10.3324/haematol.2020.247031
- Литвинов Д.В., Карелин А.Ф., Романова К.И., Румянцев Ю.В., Карачунский А.И. Лечение острого лимфобластного лейкоза у детей: современные возможности и нерешенные проблемы. *Доктор.Ру* 2015; 10 (111): 30–7.
- Лебедев В.В., Румянцев А.Г., Мякова Н.В., Тимаков А.М., Карачунский А.И., Шамардина А.В. и др. Результаты мультицентрового исследования лечения острого лимфобластного лейкоза у детей по программам ALL-MB 91/ALL-BFM 90m: анализ эффективности и токсичности. *Терапевтический архив* 2007; 79 (7): 19–26.
- Karachunskiy A., Herold R., von Stackelberg A., Miakova N., Timakov A., Mahortih T., et al. Results of the first randomized multicentre trial on childhood acute lymphoblastic leukaemia in Russia. *Leukemia* 2008; 22 (6): 1144–53. DOI: 10.1038/leu.2008.63
- Кондратчик К.Л., Карачунский А.И., Литвинов Д.В., Шамардина А.В., Алейникова О.В., Фечина Л.Г. и др. Эффективность протокола ALL-MB 2002 у детей с острым лимфобластным лейкозом. *Терапевтический архив* 2010; (7): 11–9.
- Румянцев Ю.В., Карачунский А.И., Алейникова О.В., Фечина Л.Г., Шамардина А.В., Литвинов Д.В. и др. Прогностические факторы в мультицентровом исследовании лечения острого лимфобластного лейкоза у детей в протоколах Москва–Берлин. *Онкогематология* 2010; 1: 37–49.
- Karachunskiy A., Roumiantseva J., Lagoiko S., Bühner C., Tallen G., Aleinikova O., et al. Efficacy and toxicity of dexamethasone vs methylprednisolone – long-term results in more than 1000 patients from the Russian randomized multicentric trial ALL-MB 2002. *Leukemia* 2015; 29 (9): 1955–8.
- Karachunskiy A., Tallen G., Roumiantseva J., Lagoiko S., Chervova A., von Stackelberg A., et al. Reduced vs. standard dose native E. coli-asparaginase therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia: long-term results of the randomized trial Moscow–Berlin 2002. *J Cancer Res Clin Oncol* 2019; 145 (4): 1001–12. DOI: 10.1007/s00432-019-02854-x
- Bene M., Castoldi G., Knapp W., Ludwig W.D., Matutes., 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.
- 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: 163–70.
- 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.
- Arico M., Valsecchi M.G., Rizzari C., Barisone E., Biondi A., Casale F., et al. Long-term results of the AIEOP-ALL-95 trial for childhood acute lymphoblastic leukemia: insight on the prognostic value of DNA index in the framework of Berlin-Frankfurt-Muenster-based chemotherapy. *J Clin Oncol* 2008; 26 (2): 283–9.
- Bhojwani D., Howard S.C., Pui C.-H. High-risk childhood acute lymphoblastic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma* 2009; 9 Suppl 3 (Suppl 3): S222–30.
- Hunger S.P., Loh M.L., Whitlock J.A., Winick N.J., Carroll W.L., Devidas M., et al. Children's Oncology Group's 2013 blueprint for research: acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2013; 60 (6): 957–63. DOI: 10.1002/pbc.24420
- Stary J., Zimmermann M., Campbell M., Castillo L., Dibar E., Donska S., et al. Intensive chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: results of the randomized Intercontinental Trial ALL IC-BFM 2002. *J Clin Oncol* 2014; 32 (3): 174–84. DOI: 10.1200/JCO.2013.48.6522
- Pui C.-H., Yang J.J., Hunger S.P., et al. Childhood acute lymphoblastic leukemia: progress through collaboration. *J Clin Oncol* 2015; 33 (27): 2938–48. DOI: 10.1200/JCO.2014.59.1636
- Pulsipher M.A., Peters C., Pui C.-H. High-risk pediatric acute lymphoblastic leukemia: to transplant or not to transplant? *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17 (1 Suppl): S137–48. DOI: 10.1016/j.bbmt.2010.10.005

# The assessment of cytokine-dependent hematopoietic cell linker and interleukin-3 levels in children with beta-thalassemia major

A.A. Mahmoud, M.E. El-Hamid, A.M. El-Hawwary, S.M. Awad, H.M. Abdallah, D.S. Morsi, M.A. El-Hawy

Menoufia University, Shebin El-Kom, Egypt

## Correspondence:

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

Beta-thalassemia is caused by a lack of or failure to synthesize beta globin chains in hemoglobin resulting in an excess of alpha chains. Cytokine-dependent hematopoietic cell linker (CLNK) is an adapter protein which is involved in the regulation of immunoreceptor signaling. It was found to be associated with a tyrosine-phosphorylated polypeptide (p92) in response to immunoreceptor stimulation. In thalassemia, oxidative stress causes tyrosine phosphorylation of the cytoplasmic domain of band 3. Therefore, we aimed to see how serum CLNK and interleukin-3 correlated with serum ferritin and annual transfusion index in children with beta-thalassemia major ( $\beta$ -TM). This case-control study included 100 non-splenectomized, transfusion-dependent  $\beta$ -TM pediatric patients receiving oral deferasirox and 100 healthy controls. The study was approved by the Institutional Review Board (IRB) of the Menoufia Faculty of Medicine, the approval number is 19/4/2021.PEDI. All procedures were carried out in accordance with relevant guidelines and regulations. In both groups, serum ferritin, interleukin-3, hemoglobin and CLNK levels were measured. They were found to be significantly higher in the  $\beta$ -TM patients than in the controls ( $p < 0.001$ ). There was a negative correlation between serum CLNK and hemoglobin ( $r = -0.483$ ,  $p < 0.001$ ), and a positive correlation between serum CLNK and ferritin levels ( $r = 0.855$ ,  $p < 0.001$ ). There was a positive correlation between serum CLNK, ferritin, and annual transfusion index. Increased serum CLNK in transfusion-dependent  $\beta$ -TM patients was associated with elevated serum ferritin concentrations and high annual transfusion index. This could be explained by reciprocal effects between immune signaling system and immature erythrocytes which release signaling molecules, such as CLNK, in the blood.

**Key words:** cytokine-dependent hematopoietic cell linker, interleukin-3, transfusion-dependent thalassemia major, iron overload, children

Mahmoud A.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (3): 42–46.

DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-42-46

**B**eta-thalassemia, one of the most common hemoglobinopathy in children, is an inherited single-gene disorder [1, 2]. It is caused by a lack or absence of beta-globin chains in hemoglobin (Hb). Beta globin synthesis is controlled by one gene on each chromosome 11 [3]. Beta-thalassemia major ( $\beta$ -TM) is a blood disorder that is usually diagnosed in children during their first year of life and requires regular blood transfusions [4].

Iron overload is caused by frequent blood transfusions, which can lead to a variety of complications, including endocrine disorders (such as disorders of growth, pubertal delay, gonadal dysfunction, and diabetes mellitus), cardiovascular and liver diseases [5].

In  $\beta$ -TM patients, cyclic adenosine monophosphate (cAMP) levels are elevated in both red blood cells and nucleated erythroblasts. In nucleated erythroblasts, the transcription factor cAMP response element-binding protein (CREB) is phosphorylated, and the levels of phosphorylation correlate with gamma-globin gene (HBG) mRNA expression levels. In beta-thalas-

semia patients, the levels of cytokines such as erythropoietin, transforming growth factor-beta, and stem cell factor are elevated, and these cytokines induce HBG mRNA expression and CREB phosphorylation. In beta-thalassemia, the cAMP-dependent pathways, the activity of which is augmented by multiple cytokines, play a crucial role in regulating HBG expression [6].

By modulating tyrosine phosphorylation, the Src family of protein tyrosine kinases (SFKs) regulates RBC membrane cotransport, including K/Cl cotransport. SFKs are a class of non-receptor tyrosine kinases that play a role in hematopoietic cell function and control via the cell membrane [7].

The cytosolic adaptor protein Src homology 2 domain-containing leukocyte phosphoprotein of 76 kD (SLP-76) plays a role in the TCR-induced signaling cascade [8]. SLP-76-related molecule was termed cytokine-dependent hematopoietic cell linker (CLNK) [9].

CLNK can be detected in a variety of cell types, including T cells, natural killer cells, and mast cells, and its expression is influenced by cytokines such as

interleukin-2 (IL-2) and interleukin-3 (IL-3). CLNK is involved in the stimulation of immunoreceptors via a tyrosine-phosphorylated polypeptide (p92) [10]. The tyrosine phosphorylation of cytoplasmic domain of band 3 that occurs in thalassemia causes major alterations in erythrocyte shape and leads to the release of microparticles and local red cell membrane instability in hemolytic anemia [11].

**Aim of the study** – to evaluate the levels of CLNK and IL-3 in children with  $\beta$ -TM and the association of CLNK concentrations with serum ferritin levels and increased frequency of blood transfusions.

## MATERIALS AND METHODS

### Study design and ethical statement

The study involved 100  $\beta$ -TM children and 100 healthy controls and took place between August 2019 and March 2020. They were recruited from the Hematology Unit and the Outpatient Clinic of the Department of Pediatrics, Menoufia University. Before being included in the study, all participants and their parents/legal guardians provided their written informed consent. We took a thorough medical history and performed a complete physical examination of all the patients. The study was approved by the Institutional Review Board (IRB) of the Menoufia Faculty of Medicine, the approval number is 19/4/2021.PEDI. All procedures were carried out in accordance with relevant guidelines and regulations.

### Inclusion criteria

Children with  $\beta$ -TM as determined by Hb electrophoresis, transfusion-dependent, treated with iron chelation therapy (oral deferasirox), not requiring splenectomy. All patients had their C-reactive protein levels checked to rule out any inflammation.

### Exclusion criteria

Patients with systemic conditions such as diabetes, heart disease, or hepatic problems.

### Methods

Five milliliters of whole blood was collected from each  $\beta$ -TM patient (before blood transfusion) and healthy control and divided into two aliquots. One aliquot was transferred to an EDTA tube for hematological analysis, while the other was transferred to a plain tube and centrifuged for 10 minutes at 3000 rpm to separate serum. Serum was stored at 2 to 8°C for up to 48 hours or frozen until used for CLNK and IL-3 testing.

CLNK concentration was measured in the patients' serum using a solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay (Bioassay Technology Laboratory, Cat.

No E4818Hu, China) as directed by the manufacturer. First, we added 50  $\mu$ L of standard reagent (provided in the kits) to the standard well. Next, we added 40  $\mu$ L of each sample to sample wells and then added 10  $\mu$ L of anti-CLNK antibody to sample wells. After that, 50  $\mu$ L of streptavidin-HRP was added. Following a 60-minute incubation period at 37°C and five automated washing cycles, we added 50  $\mu$ L of substrate solution A and 50  $\mu$ L of substrate solution B to each well and incubated for 10 minutes in the dark. Finally, a stop solution was added to each well, and the optical density was determined using a 450 nm microplate reader. Curve and regression analysis were used to calculate the results with computer-based tools.

Double antibody sandwich ELISA kits were used to assess human IL-3 in serum (Sunred Biological Technology, Catalog No. 201-12-0094, China).

Fifty microliter of each standard was combined with 50  $\mu$ L of streptavidin-HRP solution in the standard wells. In the sample wells, 40  $\mu$ L of a sample was mixed with 50  $\mu$ L of Streptavidin-HRP, and then 10  $\mu$ L of IL-3 antibody was added to each ELISA plate. After 1 hour of incubation at 37°C, the plates were washed five times with a wash buffer.

After that, 50  $\mu$ L of chromogen solution A and 50  $\mu$ L of chromogen solution B were added to each well (the liquid turned blue) and incubated for 10 minutes at 37°C in the dark. Last but not least, 50  $\mu$ L of stop solution was added (the blue color turned yellow in an instant). The plates were scanned using a microplate reader set to a wavelength suitable for the color reaction (the optical density was measured at 450 nm). The correlation between color intensity and sample IL-3 levels was found to be positive.

Serum ferritin levels were determined using an automated analytical technique (Cobas e604 Roche Company).

### Sample size calculation

The sample size was calculated to achieve 95% confidence interval and 80% power. We used an unpaired t-test and a (two-sided)  $\alpha$  of 0.05. Based on a previous study [12], the mean CLNK in the group of  $\beta$ -thalassemia patients was 6.24 ng/mL while that in healthy controls was 1.95; SD was 10.81, with a group size ratio of 1/1 (100 participants in each group).

### Statistical analysis

The obtained data were analyzed using the IBM SPSS Statistics version 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). A chi-square test was used to examine the relationship between qualitative variables. For quantitative data, the two groups were compared using either Student's t-test or Mann-Whitney U test (a

non-parametric t-test) as appropriate. Pearson's correlation coefficient or Spearman's Rho method (as appropriate) was used to examine the correlation between numerical variables. Multiple linear regression was carried out to investigate the relationship between the dependent variable (CLNK) and independent (other laboratory variables) variables. A  $p$ -value  $< 0.05$  was considered significant.

## RESULTS

The mean age of the  $\beta$ -TM patients was 8.8 (SD – 4.2) years, with males accounting for 58% ( $n = 58$ ) of the total number of patients, while the mean age of the healthy controls was 7.9 (SD – 3.7) years, with females making up 51 percent ( $n = 51$ ) of the group. There was no significant difference in age or gender between the two groups, but there was a significant difference in Hb, mean corpuscular volume (MCV), and mean corpuscular Hb (MCH) between the groups, with much lower values in the  $\beta$ -TM patients compared with the controls ( $p < 0.001$ ). In the  $\beta$ -TM patients, serum ferritin, IL-3, and CLNK levels were significantly higher than in the controls ( $p < 0.001$ ), as shown in table 1.

There was a significant negative correlation between serum CLNK and Hb levels ( $r = -0.483$ ,  $p < 0.001$ ), and a significant positive correlation between serum CLNK and serum ferritin and IL-3 ( $r = 0.855$ ,  $p < 0.001$  and  $r = 0.664$ ,  $p < 0.001$ , respectively). The two groups did not differ significantly

in terms of age, MCV, MCH, white blood cells, and platelets (table 2). High CLNK levels correlated with significantly decreased Hb and HCT levels ( $r = -0.918$ ,  $p < 0.001$  and  $r = -0.334$ ,  $p < 0.001$ , respectively) and increased serum ferritin and IL-3 concentrations and number of transfusions per year ( $p < 0.001$ ) (table 3). As shown in figure, there was a significant positive correlation between serum ferritin and transfusion index per year ( $r = 0.538$ ,  $p < 0.001$  and  $r = 0.847$ ,  $p < 0.001$ , respectively).

**Table 2**

A correlation between CLNK levels and other parameters in the thalassemia major patients

| Parameters                  | CLNK, ng/mL |          |
|-----------------------------|-------------|----------|
|                             | r           | p-value  |
| Age, year                   | -0.151      | 0.13     |
| Hb, g/dL                    | -0.483      | < 0.001* |
| MCV, fL                     | -0.027      | 0.79     |
| MCH, pg                     | 0.092       | 0.36     |
| PLT, $10^3/\text{mCL}$      | 0.091       | 0.37     |
| WBC, $\times 10^9/\text{L}$ | -0.028      | 0.78     |
| Ferritin, $\mu\text{g/L}$   | 0.855       | < 0.001* |
| IL-3, pg/mL                 | 0.664       | < 0.001* |

**Table 3**

Multiple linear regression analysis to detect predictable factors for CLNK among the thalassemia major patients

| Predictors                    | $\beta$ | r      | p-value  |
|-------------------------------|---------|--------|----------|
| Hb, g/dL                      | -0.493  | 0.332* | < 0.001* |
| MCV, fL                       | -0.021  | 0.037  | 0.15     |
| MCH, pg                       | 0.039   | 0.316  | 0.24     |
| Ferritin, $\mu\text{g/L}$     | 0.001   | 0.502* | < 0.001* |
| Transfusion index, mL/kg/year | 0.058   | 0.580* | < 0.001* |
| IL-3, pg/mL                   | 0.646   | 0.503* | < 0.001* |

Note. A dependent variable was CLNK. \* – significant difference.

**Table 1**

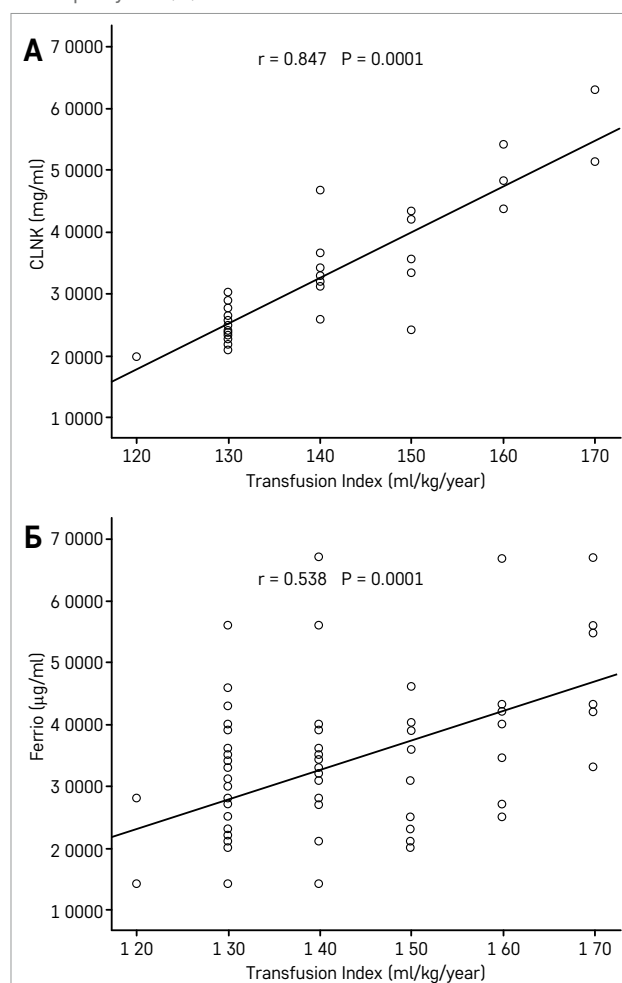
Demographic and laboratory characteristics of the groups

| Indicator                   | Mean (SD)            | Median (range)  | Test of significance      | p-value  |
|-----------------------------|----------------------|-----------------|---------------------------|----------|
| Age, year                   | $\beta$ -TM patients | 8.8 (4.2)       | Mann-Whitney test = 0.72  | 0.47     |
|                             | Controls             | 7.9 (3.7)       |                           |          |
| Sex                         | Male                 | Female          | $\chi^2$ test = 1.63      | 0.20     |
|                             | $\beta$ -TM patients | 58 (58.0%)      |                           |          |
| Hb, g/dL                    | Controls             | 49 (49.0%)      | T-test = 50.83            | < 0.001* |
|                             | $\beta$ -TM patients | 6.7 (0.66)      |                           |          |
| MCV, fL                     | Controls             | 12.1 (0.81)     | T-test = 14.20            | < 0.001* |
|                             | $\beta$ -TM patients | 69.9 (4.6)      |                           |          |
| MCH, pg                     | Controls             | 78.6 (3.9)      | T-test = 13.21            | < 0.001* |
|                             | $\beta$ -TM patients | 23.5 (1.9)      |                           |          |
| PLT, $10^3/\text{mCL}$      | Controls             | 27.1 (1.9)      | Mann-Whitney test = 1.09  | 0.28     |
|                             | $\beta$ -TM patients | 375.8 (133.7)   |                           |          |
| WBC, $\times 10^9/\text{L}$ | Controls             | 359.7 (68.3)    | Mann-Whitney test = 1.06  | 0.29     |
|                             | $\beta$ -TM patients | 10.3 (3.5)      |                           |          |
| Ferritin, $\mu\text{g/L}$   | Controls             | 9.4 (2.7)       | Mann-Whitney test = 12.23 | < 0.001* |
|                             | $\beta$ -TM patients | 3250.5 (1169.1) |                           |          |
| CLNK, ng/mL                 | Controls             | 43.3 (13.04)    | T-test = 16.77            | < 0.001* |
|                             | $\beta$ -TM patients | 3.3(1.1)        |                           |          |
| IL-3, pg/mL                 | Controls             | 1.4(0.22)       | T-test = 14.8             | < 0.001* |
|                             | $\beta$ -TM patients | 18.2 $\pm$ 7.8  |                           |          |
|                             | Controls             | 0.8 $\pm$ 0.3   |                           |          |

Note. In this table and in table 2: PLT – platelet; WBC – white blood cells; \* – significant difference.



**Figure**  
Correlations between serum CLNK and transfusion index per year (A) and between serum ferritin and transfusion index per year (B)



## DISCUSSION

Beta-thalassemia is an inherited disorder characterized by reduced or absent  $\beta$ -globin production and an excess of unpaired  $\alpha$ -globins [13]. Unpaired  $\alpha$ -globins precipitate and autooxidize, releasing large amounts of ROS, free heme, and iron [14]. These molecules cause lipid and protein oxidation, which leads to band 3 clusterization and phosphatidylserine exposure, resulting in eryptosis of RBCs, which are then removed by macrophages [15]. Several studies have shown that an increased number of activated macrophages in the bone marrow of  $\beta$ -thalassemia patients indicates enhanced eryptosis, which is defined as suicidal RBC death that occurs following RBC injury [16]. CLNK is a cytokine inducible (IL-2 and IL-3) adaptor protein produced in hematopoietic cells that belongs to the SLP-76 family of adaptor proteins [17].

In  $\beta$ -TM RBCs have short half-lives and are prone to hemolysis, which results in the release of soluble receptors and signaling molecules including CLNK. Increased levels of several pro-inflammatory cytokines

may be detected in  $\beta$ -TM and might contribute to erythropoiesis deficiencies as a result of chronic illness anemia [13]. In our study, blood CLNK levels in  $\beta$ -TM patients were found to be significantly higher than in the controls. There was a significant negative correlation between serum CLNK and Hb. On the other hand, we identified a significant positive correlation between serum CLNK and serum ferritin levels. Increased CLNK levels resulted in a significant drop in Hb. Quite the opposite, high CLNK levels were associated with an increase in serum ferritin and transfusion index per year. We also observed a significant positive correlation between serum ferritin, serum CLNK, and the annual transfusion index. Al-Hakeim et al. [12] found that serum CLNK was significantly associated with the number of transfusions and serum ferritin levels in patients with transfusion-dependent thalassemia. They also reported significant correlations between CLNK and Hb, PCV%, and serum ferritin. A positive correlation between CLNK and ferritin or the number of transfusions was explained by the dependence of CLNK on iron overload status. Karunaratna et al. [18] also reported a correlation between blood transfusion frequency and iron burden in the body, as well as higher serum ferritin levels. In beta thalassemia patients, the interaction between CLNK and iron overload biomarkers may be explained by the formation microvesicles in RBCs.

Bailey et al. [6] showed that the cAMP-dependent pathway, the activity of which is controlled by multiple cytokines, plays a role in regulating HbG expression in  $\beta$ -TM. In thalassemia and sickle cell disease, there is a significant increase in microvesicle levels [19]. The formation, storage, and clustering of RBC microvesicles is associated with the phosphorylation of band 3 in  $\beta$ -TM patients [20]. The involvement of various signaling pathways in RBC vesiculation is supported by a large number of signaling proteins in microvesicles obtained from the plasma of healthy donors [21].

Macrovesicles are generated to remove oxidized Hb and damaged membrane constituents. Damage to Hb together with altered phosphorylation of membrane proteins, such as band 3, lead to a weakening of the binding between the cytoskeleton and the lipid bilayer, resulting in increased microparticle shedding [12]. These RBC-derived microvesicles play a role in thrombosis, inflammation, and autoimmune reactions [22].

In our study, children with  $\beta$ -TM had markedly increased levels of IL-3, and there was a significant positive correlation between CLNK and IL-3 levels. According to Kutukculer et al. [23], children with  $\beta$ -TM have higher levels of IL-3 than healthy controls. Oppenheim et al. [24] also reported a significant increase in IL-3 in  $\beta$ -TM patients. This could be explained by the role of IL-3 as a multi-colony stimulating factor in hematopoietic cell proliferation, particularly in stimulating erythroid colony formation [24].

## CONCLUSION

Serum CLNK levels are increased in transfusion-dependent beta thalassemia major patients, and these increased CLNK levels are associated with elevated serum ferritin levels and increased number of transfusions per year. This could be related to the production of signaling molecules such as CLNK in the bloodstream by an immunological signaling pathway and immature erythrocytes.

Further research into cytokines affecting hematopoiesis and their implications in erythropoietic defects and immune responses in beta thalassemia major patients with partial functional immunodeficiency is needed.

## FUNDING

Not specified.

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

## ORCID

Morsi D.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1754-8251>

El-Hawry M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3420-922X>

## References

- Modell B., Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bull World Health Organ* 2008; 86 (6): 480–7. DOI: 10.2471/blt.06.036673
- Cassinerio E., Roghi A., Pedrotti P., Brevi F., Zanaboni L., Graziadei G., et al. Cardiac iron removal and functional cardiac improvement by different iron chelation regimens in thalassemia major patients. *Ann Haematol* 2012; 91 (9): 1443–9. DOI: 10.1007/s00277-012-1480-8
- Herbert L., Campbell J., et al. Alpha and beta thalassemia. *Am Fam Physician* 2009; 80 (4): 339–44.
- Cao A., Galanello R. Beta-thalassemia. *Genet Med* 2010; 12 (2): 61–76. DOI: 10.1097/GIM.0b013e3181cd68ed
- Borgna-Pignatti C., Cappellini M.D., De Stefano P., Del Vecchio G.C., Forni G.L., Gamberini M.R., et al. Survival and complications in thalassemia. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1054: 40–7. DOI: 10.1196/annals.1345.006
- Bailey L., Kuroyanagi Y., Franco-Penteado C.F., Conran N., Costa F.F., Ausenda S., et al. Expression of the gamma-globin gene is sustained by the cAMP-dependent pathway in beta-thalassemia. *Br J Haematol* 2007; 138 (3): 382–95. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2007.06673.x
- De Franceschi L., Fumagalli L., Olivieri O., Corrocher R., Lowell C.A., Berton G. Deficiency of Src family kinases Fgr and Hck results in activation of erythrocyte K/Cl cotransport. *J Clin Invest* 1997; 99: 220–7. DOI: 10.1172/JCI119150
- Ji Q., Ding Y., Salomon A.R. SRC homology 2 domain-containing leukocyte phosphor-protein of 76 kDa (SLP-76) N-terminal tyrosine residues regulate a dynamic signaling equilibrium involving feedback of proximal T-cell receptor (TCR) signaling. *Mol Cell Proteomics* 2015; 14 (1): 30–40. DOI: 10.1074/mcp.M114.037861
- Cao M.Y., Davidson D., Yu J., Latour S., Veillette A. CLNK, a novel SLP-76-related adaptor molecule expressed in cytokine-stimulated hemopoietic cells. *J Exp Med* 1999; 190 (10): 1527–34. DOI: 10.1084/jem.190.10.1527
- Ferru E., Giger K., Pantaleo A., Campanella E., Grey J., Ritchie K., et al. Regulation of membrane-cytoskeletal interactions by tyrosine phosphorylation of erythrocyte band 3. *Blood* 2011; 117 (22): 5998–6006. DOI: 10.1182/blood-2010-11-317024
- Ferru E., Pantaleo A., Carta F., Mannu F., Khadjavi A., Gallo V., et al. Thalassemic erythrocytes release microparticles loaded with hemichromes by redox activation of p72Syk kinase. *Haematologica* 2014; 99 (3): 570–8. DOI: 10.3324/haematol.2013.084533
- Al-Hakeim, H.K., Al-Mayali H.H., Moustafa S.R., Maes M. Cytokine Dependent Hematopoietic Cell Linker (CLNK) is Highly Elevated in Blood Transfusion Dependent Beta-Thalassemia Major Patients. *Transfus Clin Biol* 2021; 28 (2): 194–8. DOI: 10.1016/j.tracbi.2021.01.003
- Ribeil J.A., Arlet J.B., Dussiot M. Ineffective erythropoiesis in beta-thalassemia. *Sci World J* 2013; 2013: 394295. DOI: 10.1155/2013/394295
- Rifkind J.M., Mohanty J.G., Nagababu E. The pathophysiology of extracellular hemoglobin associated with enhanced oxidative reactions. *Front Physiol* 2014; 5: 500. DOI: 10.3389/fphys.2014.00500
- Ibrahim H.A., Fouda M.I., Yahya R.S., Abousamra N.K., Abd Elazim R.A. Erythrocyte phosphatidylserine exposure in beta-thalassemia. *Lab Hematol* 2014; 20 (2): 9–14. DOI: 10.1532/LH96.12016
- Centis F., Tabellini L., Lucarelli G., Buffi O., Tonucci P., Persini B., et al. The importance of erythroid expansion in determining the extent of apoptosis in erythroid precursors in patients with beta-thalassemia major. *Blood* 2000; 96 (10): 3624–9.
- Yu J., Riou C., Davidson D., Minhas R., Robson J.D., Julius M., et al. Synergistic Regulation of Immunoreceptor Signaling by SLP-76 Related Adaptor CLNK and Serine/Threonine Protein Kinase HPK-1. *Mol Cell Biol* 2001; 21 (18): 6102–12. DOI: 10.1128/MCB.21.18.6102-6112.2001
- Karunaratna A.M., Ranasingha J.G., Mudiyanse R.M. Iron overload in beta thalassemia major patients. *Int J Blood Transfus Immuno hematol* 2017; (7): 33–40. DOI: 10.5348/ijbti-2017-32-0A-5. [www.ijbti.com](http://www.ijbti.com)
- Azouzi S., Romana M., Arashiki N., Takakuwa Y., El Nemer W., Peyrard T., et al. Band 3 phosphorylation induces irreversible alterations of stored red blood cells. *Am J Hematol* 2018; 93 (5): E110–2. DOI: 10.1002/ajh.25044
- Bosman G.J., Lasonder E., Groenen-Döpp Y.A.M., Willekens F.L.A., Werre J.M., et al. The proteome of erythrocyte-derived microparticles from plasma: new clues for erythrocyte aging and vesiculation. *J Proteomics* 2012; 76: 203–10. DOI: 10.1016/j.jprot.2012.05.031
- Willekens F.L., Werre J.M., Groenen-Döpp Y.A.M., Roerdinkholder-Stoelwinder B., de Pauw B., Bosman G.J.C.G.M., et al. Erythrocyte vesiculation: a self-protective mechanism? *Br J Haematol* 2008; 141 (4): 549–56. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07055.x
- Leal J.K.F., Adjubo-Hermans M.J.W., Bosman G.J.C. Red blood cell homeostasis: mechanisms and effects of microvesicle generation in health and disease. *Front Physiol* 2018; 9: 703. DOI: 10.3389/fphys.2018.00703
- Kutukculer N., Vergin C., Cettingul N., Kavakli K., Caglayan S., Oztop S., Nisli G. Plasma Interleukin-3 (IL-3) and IL-7 Concentrations in Children with Homozygous Beta-thalassemia. *J Trop Pediatr* 1997; 43 (6): 366–7. DOI: 10.1093/tropej/43.6.366
- Oppenheim J.J., Ruscetti F.W., Faltynek C. Cytokines. In: Stites D.P., Terr A.I., Parslow T.G. (eds.). *Basic and clinical immunology*, 8<sup>th</sup> ed. London; Appleton and Lange; 1994. Pp. 105–123.

DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-47-55

# Характеристика клинических и лабораторных проявлений в группе пациентов с синдромом атаксии-телеангиэктазии

Т.В. Асекретова<sup>1</sup>, Л.Х. Андержанова<sup>2</sup>, М.Е. Леонтьева<sup>2</sup>, Ю.А. Родина<sup>2</sup>, А.В. Панферова<sup>2</sup>, М.Ю. Алексенко<sup>2</sup>, Д.Е. Першин<sup>2</sup>, М.Б. Хаджиева<sup>2</sup>, С.С. Ларин<sup>2</sup>, Е.В. Райкина<sup>2</sup>, В.В. Лебедев<sup>1</sup>, Н.В. Мякова<sup>2</sup>, А.Ю. Щербина<sup>2</sup>, Е.В. Дерипапа<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» Министерства здравоохранения Краснодарского края, Краснодар

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

В статье представлены клиничко-лабораторные данные 50 пациентов с синдромом атаксии-телеангиэктазии (АТ; синдром Луи-Бар), наблюдавшихся в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва) в период с 2012 по 2021 г. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Отмечена выраженная задержка постановки диагноза (медиана 4,5 года), несмотря на то, что у пациентов в более раннем возрасте (медиана 1,5 года) уже были отмечены типичные проявления АТ. Хотя у большинства больных имеются лабораторные признаки иммунодефицита, только в 24% случаев были документированы тяжелые инфекции. Тем не менее у 16% пациентов инфекции легких привели к развитию бронхоэктатической болезни и явились причиной смерти в 4/10 случаях. Аутоиммунные осложнения, включая интерстициальное лимфоцитарное заболевание легких и гранулемы кожи, отмечены у 52%, злокачественные новообразования – у 24% пациентов. У 85% обследованных уровни KREC, TREC были ниже минимального диагностического уровня, установленного для неонатального скрининга первичных иммунодефицитов в России, что говорит о возможности раннего выявления пациентов с АТ. Ранняя диагностика синдрома АТ, мультидисциплинарный подход и повышенная настороженность в отношении развития онкологических проявлений являются важными аспектами ведения данной когорты пациентов.

**Ключевые слова:** дети, иммунодефицит, синдром атаксии-телеангиэктазии, TREC, KREC, онкологические заболевания, интерстициальная лимфоцитарная болезнь легких

Асекретова Т.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022; 21 (3): 47–55. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-47-55

## Clinical and laboratory characteristics of a group of patients with ataxia-telangiectasia syndrome

T.V. Asekretova<sup>1</sup>, L.H. Anderzhanova<sup>2</sup>, M.E. Leontyeva<sup>2</sup>, Yu.A. Rodina<sup>2</sup>, A.V. Panferova<sup>2</sup>, M.Yu. Alexenko<sup>2</sup>, D.E. Pershin<sup>2</sup>, M.B. Khadzhiyeva<sup>2</sup>, S.S. Larin<sup>2</sup>, E.V. Raykina<sup>2</sup>, V.V. Lebedev<sup>1</sup>, N.V. Myakova<sup>2</sup>, A.Yu. Shcherbina<sup>2</sup>, E.V. Deripapa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Children's Regional Clinical Hospital of Ministry of Healthcare of the Krasnodar Region, Krasnodar

<sup>2</sup>Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

This study presents the clinical and laboratory data of 50 patients with ataxia-telangiectasia syndrome (AT) (Louis-Bar syndrome) treated at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia) between 2012 and 2021. 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. We found that the patients experienced a significant diagnostic delay (the median delay in diagnosis was 4.5 years), although the first typical symptoms of AT were present at an earlier age (the median age was 1.5 years). The majority of patients showed laboratory signs of immunodeficiency, yet only 24% of the children developed severe infections. However, lung infections resulted in bronchiectasis in 16% of the patients and were the cause of death in 4/10 cases. Fifty-two percent of the patients had autoimmune complications, including interstitial lung disease and skin granulomas, and 24% of the patients developed malignant neoplasms. Of patients who underwent testing, 85% had KREC and/or TREC levels below the cut-off values used for neonatal screening of primary immunodeficiency disorders in Russia, which suggests that the majority of AT cases could be diagnosed by neonatal screening. Early diagnosis, multidisciplinary approach and high clinical suspicion for neoplastic manifestations are crucial for the successful management of AT.

**Key words:** children, immunodeficiency, ataxia-telangiectasia syndrome, TREC, KREC, oncological diseases, interstitial lung disease

Asekretova T.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (3): 47–55. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-47-55

© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Поступила 12.07.2022

Принята к печати 29.08.2022

### Контактная информация:

Асекретова Татьяна Валерьевна, врач-детский онколог отделения онкологии и гематологии с химиотерапией ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» Министерства здравоохранения Краснодарского края  
Адрес: 350007, Краснодар, Площадь Победы, 1  
E-mail: tasekretova75@gmail.com

© 2022 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 12.07.2022

Accepted 29.08.2022

### Correspondence:

Tatiana V. Asekretova, a pediatric oncologist at the Department of Oncology, Hematology and Chemotherapy of Children's Regional Clinical Hospital of Ministry of Healthcare of the Krasnodar Region  
Address: 1 Pobedy Square, Krasnodar 350007, Russia  
E-mail: tasekretova75@gmail.com

**С**индром атаксии-телеангиэктазии (АТ), или синдром Луи-Бар, – это аутосомно-рецессивное мультисистемное заболевание, основными чертами которого являются прогрессирующие нейродегенеративные проявления, комбинированный иммунодефицит и повышенная склонность к развитию онкологических проявлений [1].

Заболевание вызвано биаллельными мутациями в гене *ATM* [2], состоящем из 66 экзонов (9168 нуклеотидов) и кодирующем одноименный белок. Большинство описанных при АТ мутаций в *ATM* приводят к значительному снижению или полному отсутствию экспрессии белкового продукта [3]. Белок АТМ является серин-треонин-протеинкиназой с большим разнообразием субстратов [4], участвующих в репарации ДНК при одно- и двухцепочечных разрывах, контроле клеточного цикла и процессах апоптоза. Кроме того, исследования последних лет доказывают роль АТМ в клеточных событиях, индуцированных активными радикалами кислорода и оксидативным стрессом [5], а также метаболическим стрессом [6]. Клетки с дефицитом АТМ демонстрируют признаки повышенного оксидативного стресса, митохондриальной дисфункции, нарушения кальциевого гомеостаза и накопления большого количества различных белковых агрегатов – черты, присущие также многим другим нейродегенеративным заболеваниям [4]. Тем не менее полное понимание патогенеза АТ на сегодняшний день отсутствует.

Нарушение походки вследствие мозжечковой атаксии, возникающее, как правило, на втором году жизни (реже – в более старшем возрасте), является первым признаком заболевания и нередко ведет к постановке ложного диагноза – детского церебрального паралича [1]. Атаксия прогрессирует с возрастом, и большинство пациентов не могут ходить уже к 8–10 годам. К другим неврологическим проявлениям относятся дизартрия, окуломоторная апраксия, хореоатетоз, дисфагия. Телеангиэктазии на склерах и коже лица и туловища обычно появляются в возрасте ~5 лет, однако не всегда обращают на себя внимание врачей и родителей. Иммунодефицит проявляется частыми оппортунистическими инфекциями и целым рядом аутоиммунных проявлений, включая характерное гранулематозное поражение кожи, а также развитие интерстициальной лимфоцитарной болезни легких (ИЛБЛ) [7, 8]. Пациентов с АТ отличают повышенный риск развития лимфоретикулярных и солидных новообразований, метаболические нарушения и преждевременное старение [9]. Ожидаемая продолжительность жизни не превышает 30 лет, хотя существуют сообщения о пациентах с более легким клиническим течением АТ, доживших до пожилого возраста [10]. Куративные опции при АТ отсутствуют, однако знание основного диагноза крайне важно для

определения тактики терапии иммунологических и онкологических осложнений [11].

Частота АТ в зависимости от популяции варьирует от 1:40 000 до 1:100 000 новорожденных [12]. Распространенность АТ в Российской Федерации, по данным Регистра первичных иммунодефицитов, составляет 1:100 000. Медиана задержки постановки диагноза – 3 года (максимальная отсрочка – 17 лет) [13], что говорит о значительных проблемах в выявляемости данного заболевания и не может не сказываться на качестве жизни российских пациентов с АТ. В связи с этим характеристика клинико-лабораторных особенностей российской группы пациентов с данным сложным заболеванием является актуальной для медицинских специалистов различных профилей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе исследования проведен ретроспективный анализ данных 50 пациентов с синдромом АТ, которые проходили лечение в ДККБ (Краснодар) и НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева (Москва) с января 2012 г. по декабрь 2021 г. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Диагноз АТ был выставлен на основании диагностических критериев ESID [14] и во всех случаях подтвержден молекулярно-генетическим методом: у всех пациентов были выявлены биаллельные мутации в гене *ATM*.

Проанализирован возраст первых проявлений заболевания, возраст постановки диагноза, типы, степень и частота инфекционных, аутоиммунных и злокачественных заболеваний, а также протоколы лечения этих проявлений и результаты.

Учитываемые инфекционные осложнения были разделены на 2 группы в зависимости от тяжести. Тяжелые инфекции определялись как более чем 2 эпизода пневмонии в год, любая инфекция, требующая назначения парантеральной антибактериальной терапии, а также инфекции, сопровождающиеся дыхательной недостаточностью, остальные инфекции считались нетяжелыми.

Определение субпопуляции лимфоцитов проводили с использованием метода проточной цитометрии с использованием моноклональных антител CD3, CD4, CD8, CD19 (Becton Dickinson) согласно инструкции производителя. Показатели иммуноглобулинов классов G (IgG), A (IgA), M (IgM) анализировали с помощью метода нефелометрии на приборе BN ProSpecSiemens с использованием наборов NAntiserum to Human IgG IgA IgM согласно инструкции производителя. Показатели Т-лимфоцитов менее 1000 кл/мкл, В-лимфоцитов менее 200 кл/мкл, снижение одного или нескольких классов

иммуноглобулинов менее 2 стандартных отклонений от средневозрастной нормы классифицировали как сниженные. Для анализа использовались измерения, проводимые не ранее чем через 6 мес после высокодозной химиотерапии. Из анализа В-лимфоцитов исключены пациенты, получившие предшествующую терапию ритуксимабом, вне зависимости от сроков ее проведения. В случае повторных исследований у одного пациента использовались их максимальные значения. Показатели IgG анализировались до начала терапии препаратами иммуноглобулинов.

Выявление мутаций в гене *ATM* проводили методом высокопроизводительного секвенирования с использованием 2 таргетных NGS-панелей: гибридной панели «Иммунологическая», включающей 345 генов, ассоциированных с различными иммунодефицитами ( $n = 23$ ), и амплификационной панели «Атаксия-телеангиэктазия», разработанной исключительно для исследования гена *ATM* ( $n = 28$ ). Пробо-подготовка ДНК-библиотек осуществлялась методом селективного гибридационного обогащения с применением кастомной панели зондов производства Roche (Швейцария) для панели «Иммунологическая» и с помощью конструктора ДНК-библиотек GenSeq™ и панели праймеров Custom Panel AmpliSeq (Thermo Fisher Scientific) для панели «Атаксия-телеангиэктазия». Секвенирование проводили методом парно-концевых прочтений на платформе Illumina NextSeq и MiSeq (США) для панелей «Иммунологическая» и «Атаксия-телеангиэктазия» соответственно. Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использовались выборки проектов gnomAD, 1000 Genomes, ESP6500 и Exome Aggregation Consortium, для оценки клинической значимости – базы данных OMIM, HGMD, ClinVar и соответствующие литературные данные (PubMed). В случае выявления крупных инсерций/делеций валидацию проводили методом мультиплексной лигазозависимой амплификации проб (MLPA) с использованием наборов SALSA MLPA P041 ATM-1 и P042 ATM-2 производства MRC-Holland (Голландия).

Вирус краснухи определяли в биоптатах гранулематозных очагов кожи методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием наборов АмплиСенс Rubellavirus-FL (ИнтеЛабсервис, Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

TREC (Т-клеточные эксцизионные кольца) и KREC (Каппа-эксцизионные кольца) являются молекулярно-генетическими маркерами тимопозза и В-лимфопозза соответственно. TREC и KREC анализировали методом количественной ПЦР в реальном времени. ДНК экстрагировали из 100 мкл цельной крови с антикоагулянтом EDTA с помощью набора для экстракции нуклеиновых кислот РИБО-преп (АмплиСенс, Россия). Для проведения амплификации

использовали набор T&B (АБВ-тест, Россия). Амплификацию проводили на системе ПЦР в реальном времени CFX96 (BioRad, США). В качестве внутреннего контроля использовали альбумин. Количество копий TREC (KREC) рассчитывали на  $10^5$  лейкоцитов с использованием формулы:

количество копий TREC (KREC)/количество копий альбумина  $\times 200,000$ .

Низкими считались показатели TREC и KREC менее 50, данное значение было выбрано в связи с тем, что оно используется как минимальное в проводимом в Российской Федерации неонатальном скрининге с измерением TREC/KREC. Для анализа использовались измерения, проводимые не ранее чем через 6 мес после высокодозной химиотерапии. Из анализа KREC исключены пациенты, получившие предшествующую терапию ритуксимабом, вне зависимости от сроков ее проведения. В случае повторных исследований TREC и KREC у одного пациента использовались их максимальные значения.

Рентгенологическая оценка исходной тяжести течения и динамики ИЛБЛ проводилась с использованием мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ). Данное исследование выполнялось на аппарате GE BrightSpeed 16 (GE, США) с шагом исследования 1,25–5 мм с последующей реконструкцией для анализа 0,6–1,25 мм с использованием контрастного усиления йодопромидом (Ультравист) согласно инструкции.

Для гистологической верификации поражения легких ряда пациентов выполнялась торакоскопическая атипичная (краевая) биопсия.

Патоморфологическое исследование биоптата проводилось как стандартным гистохимическим окрашиванием гематоксилином и эозином, так и с использованием иммуногистохимических маркеров – набор антител к CD20, Pax5, CD3, CD4, CD8, TdT, Ki-67, EBV, гибридизация *in situ* EBER ISH Blue.

### Статистический анализ

Характеристики, связанные с заболеванием, определялись частотами для категориальных переменных, медианами и диапазонами для количественных переменных. Показатели TREC и KREC были выражены как среднее значение  $\pm$  SEM. Значения  $p$  менее 0,05 считались статистически значимыми. Статистический анализ был выполнен с использованием программного обеспечения XLSTAT, Addinsoft, 2015.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Общая характеристика пациентов с синдромом атаксии-телеангиэктазии

Из 50 пациентов с АТ 26 были мужского пола, медиана возраста на момент окончательного



анализа данных или смерти составила 10,5 (5–28) года. По национальному составу пациенты исследуемой группы распределились следующим образом: 31 – русские, 10 – азербайджанцы, 5 – армяне, 2 – чеченцы, 2 – дагестанцы и 1 – кабардинец. У 9 пациентов из 5 семей родители состояли в близком родстве.

Медиана возраста постановки диагноза синдрома АТ составила 6 (3–17) лет. У 5/50 пациентов диагноз был поставлен только после/на фоне развития онкологических осложнений. Медиана возраста проявлений атаксии составила 1,5 (1–5) года. Наличие и возраст появления телеангиэктазий мог быть обозначен родителями в 49 случаях. Интересно, что у 7/49 пациентов на момент анализа данных телеангиэктазий отмечено не было, медиана их возникновения у оставшихся 42 пациентов составила 5,2 (1–14) года.

Летальность в исследуемой группе составила 20% (10/50), медиана возраста смерти 11 (5–28) лет. Причинами смерти у 6 пациентов явились онкологические заболевания, у 4 – инфекции.

### Инфекционные осложнения

Инфекционные проявления у пациентов с синдромом АТ были полиморфными и разнообразными. Тяжелые инфекции отмечены в 12/50 (24%) случаях. Среди тяжелых инфекций отмечены пневмонии, синуситы, отиты.

### Аутоиммунные осложнения

Аутоиммунные проявления отмечены у 26/50 (52%) пациентов, медиана возраста их дебюта составила 6,5 (2–12) года (таблица 1). Они включали: цитопении – у 5 пациентов (нейтропения – 1 случай, анемия и тромбоцитопения – 4), артрит – у 3, гранулематозный дерматит – у 5, ИЛБЛ – у 13. Гранулематозный дерматит является симптомом, высокоспецифичным для заболеваний с нарушением репарации ДНК (АТ и синдром Ниймеген) [15]. Медиана возраста развития гранулематозного дерматита составила 6 (2–9) лет (рисунок 1). Диагноз гранулематозного дерматита был подтвержден гистологически у всех 5 пациентов, у 2/5 в биоптате был обнаружен вирус краснухи.

### Поражение легких

Поражение легких при АТ является известным и часто встречающимся осложнением, в связи с этим мы проанализировали данное проявление подробнее.

В исследуемой нами группе поражение легких в виде формирования бронхоэктазов отмечено у 8/50 (16,0%) пациентов (рисунок 2). Иммунное поражение легких в виде ИЛБЛ возникло у 13/50 (26,0%) пациентов (рисунок 3). Медиана возраста первых клинических или радиологических симптомов ИЛБЛ

составила 6 (2–10) лет, медиана возраста верификации ИЛБЛ – 8 (4–12) лет. Диагноз ИЛБЛ был поставлен на основании клинко-рентгенологических данных и у 7/13 подтвержден гистологически. У 7/13 пациентов рентген-гистологический вариант ИЛБЛ был представлен в виде лимфоцитарной интерстициальной пневмонии и в 6/13 – комбина-

**Таблица 1**  
Инфекционные и аутоиммунные проявления у пациентов с АТ ( $n = 50$ )

**Table 1**  
Infectious and autoimmune manifestations in the patients with ataxia-telangiectasia (AT) ( $n = 50$ )

| Симптомы<br>Symptoms                                 | Число пациентов,<br>$n$<br>Number of patients, $n$ | Возраст манифестации, медиана (диапазон), годы<br>Age at manifestation, the median (range), years | Летальный исход, $n$<br>Death, $n$ |
|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| Инфекции<br>Infections                               |                                                    |                                                                                                   |                                    |
| Нет/легкие<br>No/mild                                | 38                                                 | 4 (1–9)                                                                                           |                                    |
| Тяжелые<br>Severe                                    | 12                                                 | 2 (1–5)                                                                                           | 4                                  |
| Аутоиммунные осложнения<br>Autoimmune complications  |                                                    |                                                                                                   |                                    |
| Артрит<br>Arthritis                                  | 3                                                  | 9 (4–9)                                                                                           |                                    |
| Цитопении:<br>Cytopenias:                            |                                                    |                                                                                                   |                                    |
| нейтропения<br>neutropenia                           | 5                                                  | 3 (2–10)                                                                                          |                                    |
| анемия<br>anemia                                     | 1                                                  |                                                                                                   |                                    |
| тромбоцитопения<br>thrombocytopenia                  | 4                                                  |                                                                                                   |                                    |
| Гранулематозный дерматит<br>Granulomatous dermatitis | 5                                                  | 6 (2–9)                                                                                           |                                    |
| ИЛБЛ<br>Interstitial lymphocytic lung disease (ILLD) | 13                                                 | 8 (4–12)                                                                                          |                                    |

**Рисунок 1**  
Аутоиммунные осложнения при синдроме АТ  
А – деформирующий артрит межфалангового сустава 4-го пальца правой кисти; Б – артрит правого коленного сустава; В – гранулематозный дерматит до терапии; Г – гранулематозный дерматит после полихимиотерапии

**Figure 1**  
Autoimmune complications in the patients with AT syndrome  
А – deforming arthritis of the interphalangeal joint of the 4<sup>th</sup> finger of the right hand; Б – arthritis of the right knee joint; В – granulomatous dermatitis before therapy; Г – granulomatous dermatitis after chemotherapy



**Рисунок 2**

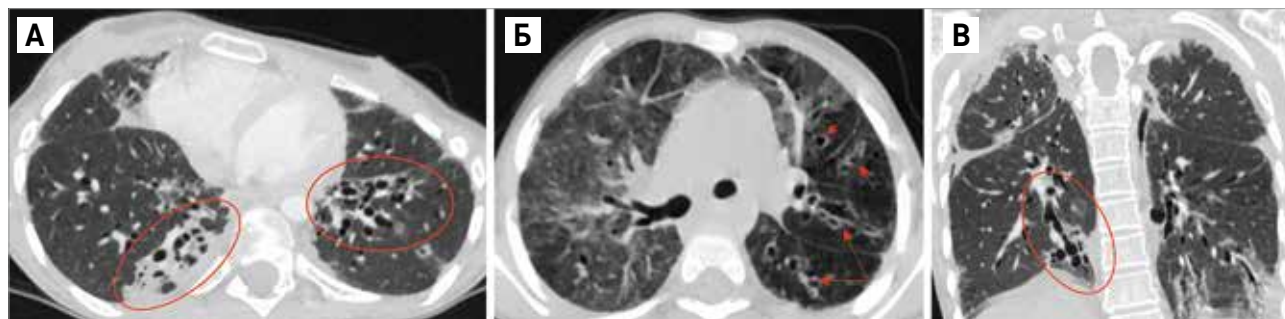
Бронхоэктатические изменения легких у 3 пациентов с АТ, не получавших заместительную терапию внутривенными иммуноглобулинами (ВВИГ)

А – концевые бронхоэктазы; Б – тракционные бронхоэктазы; В – мешотчатые бронхоэктазы

**Figure 2**

Bronchiectatic changes in the lungs of 3 patients with AT who did not receive intravenous immunoglobulin (IVIG) replacement therapy

A – bronchiectasis involving terminal bronchioles; Б – traction bronchiectases; B – saccular bronchiectases

**Рисунок 3**

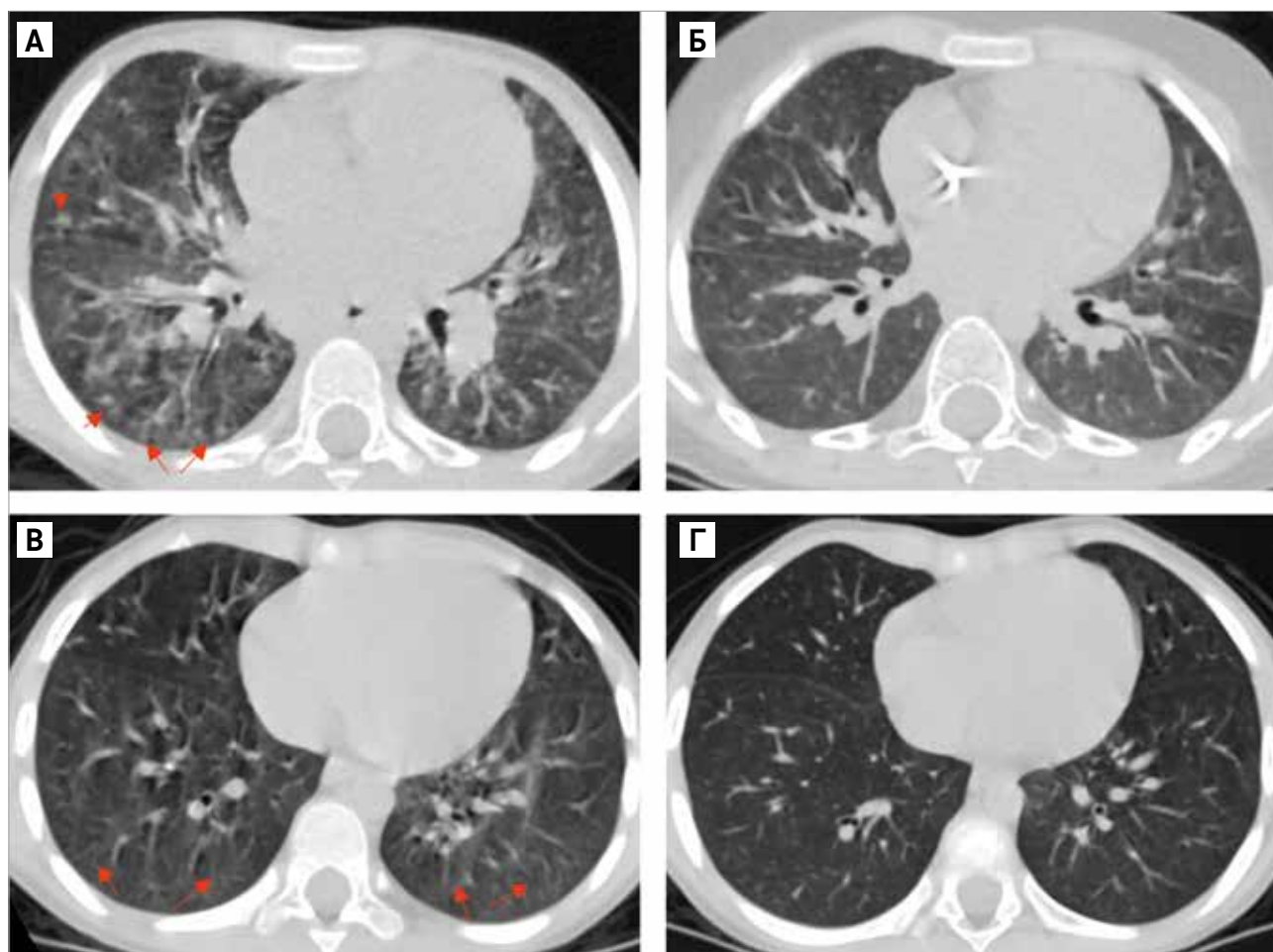
ИЛБЛ при синдроме АТ до и на фоне терапии абатацептом

А – фолликулярный бронхиолит в сочетании с лимфоцитарной пневмонией: фокусы по типу «дерево в почках» (указаны стрелками) на фоне диффузного изменения интерстиция; Б – тот же пациент через 12 мес терапии абатацептом; В – лимфоцитарная интерстициальная пневмония: диффузные изменения интерстиция по типу «матового стекла» (указаны стрелками); Г – тот же пациент через 12 мес терапии абатацептом

**Figure 3**

ILLD in the patients with AT syndrome before and during treatment with abatacept

А – follicular bronchiolitis and lymphocytic interstitial pneumonia: tree-in-bud pattern (arrows) and diffuse interstitial changes; Б – the same patient after 12 months of treatment with abatacept; В – lymphocytic interstitial pneumonia: diffuse interstitial changes of ground glass opacity (arrows); Г – the same patient after 12 months of treatment with abatacept



До терапии абатацептом  
Before treatment with abatacept

Через 12 мес терапии абатацептом  
After 12 months of treatment with abatacept

цией лимфоцитарной интерстициальной пневмонии и фолликулярного бронхолита.

### Онкологические осложнения

У 14/50 (24%) пациентов с синдромом АТ развилось 16 случаев онкологических заболеваний. У 5 (35%) пациентов диагноз синдрома АТ был установлен уже после развития злокачественного новообразования. Медиана возраста развития первой опухоли составила 6 (1–28) лет. Лимфоидное происхождение имели 15/16 опухолей, при этом преобладали зрелые В-клеточные неходжкинские лимфомы (В-НХЛ) – 7 случаев (таблица 2). У 5 пациентов был диагностирован острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), у 1 – лимфома Ходжкина (ЛХ), у 1 – Т-лимфобластная лимфома, также наблюдался 1 случай редкой НК-/Т-клеточной лимфомы. Отмечено 2 случая развития второй опухоли. В одном случае у пациента в возрасте 3 лет была диагностирована медуллобластома, а в возрасте 5 лет развилась лимфома Беркитта (ЛБ). У другого пациента после достижения ремиссии ОЛЛ развилась вторая опухоль – зрелоклеточная В-НХЛ. Пациенты получали терапию онкологических заболеваний по соответствующим протоколам, в большинстве случаев с инициальной редукцией доз алкилирующих препаратов (в случае установленного им диагноза АТ) или редукцией ввиду развившейся токсичности. Подробный анализ эффективности, токсичности химиотерапии и летальности при АТ выходит за рамки

данной публикации, он будет проведен в отдельном исследовании (Л.Х. Андержанова и соавт., в печати). Шесть пациентов умерли, 8 – живы в статусе клинико-гематологической ремиссии.

### Терапия

Все пациенты после постановки диагноза АТ получали терапию препаратами ВВИГ, независимо от уровня IgG. На фоне терапии ВВИГ отмечено сокращение частоты и тяжести острых инфекционных эпизодов. Также у 3 пациентов с артритом на фоне терапии ВВИГ отмечено уменьшение суставной симптоматики.

Терапия цитопений проводилась по стандартным протоколам с применением глюкокортикостероидов и ритуксимаба с хорошим ответом.

Терапия гранулематозного поражения кожи включала местные и системные стероиды, системную антибактериальную терапию, препараты интерферона-альфа, однако ни один из этих видов терапии не привел к уменьшению объема гранулематозных очагов. Улучшение со стороны гранулематозного дерматита было отмечено лишь на фоне полихимиотерапии, проводимой по поводу онкологического заболевания (рисунок 1Г).

Двум пациентам диагноз ИЛБЛ был поставлен в терминальной стадии заболевания, им специфическая терапия не проводилась. Иммуносупрессивная терапия различными препаратами, включая будесонид, системные глюкокортикостероиды, ритук-

Таблица 2

Клиническая характеристика онкологических проявлений у пациентов с АТ

Table 2

Clinical characteristics of neoplastic manifestations in the patients with АТ

| Вид опухоли<br>Type of tumor                        | Число случаев<br>Number of cases | Возраст дебюта, медиана (диапазон), годы<br>Age at onset, the median (range), years | Применяемые протоколы<br>Applied treatment protocols                   | Число пациентов с редукцией доз химиотерапии<br>Number of patients who received reduced chemotherapy doses | Летальный исход, n<br>Death, n |
|-----------------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| ДБКЛ<br>DLBCL                                       | 5                                | 7 (6–11)                                                                            | Модифицированный протокол В-NHL 2020M<br>Modified B-NHL 2020M protocol | 5                                                                                                          | 3                              |
| В-НХЛ неуточненная<br>Unspecified B-NHL             | 1                                | 28                                                                                  | Нет данных<br>No data available                                        | Нет данных<br>No data available                                                                            | 1                              |
| ЛХ<br>HL                                            | 1                                | 7                                                                                   | Модифицированный протокол GPOH 2002<br>Modified GPOH 2002 protocol     | 1                                                                                                          | 0                              |
| ЛБ<br>BL                                            | 1                                | 5                                                                                   | Модифицированный протокол В-NHL 2020M<br>Modified B-NHL 2020M protocol | 1                                                                                                          | 0                              |
| ОЛЛ<br>ALL                                          | 5                                | 4 (3–7)                                                                             | ALL-MB 2008, ALL-MB 2015                                               | 4                                                                                                          | 1                              |
| Т-лимфобластная лимфома<br>T-lymphoblastic lymphoma | 1                                | 1                                                                                   | BFM-LMB                                                                | 1                                                                                                          | 0                              |
| НК-/Т-клеточная лимфома<br>NK-/T-cell lymphoma      | 1                                | 10                                                                                  | Непрограммная терапия<br>Non-protocol treatment                        | 1                                                                                                          | 1                              |
| Медуллобластома<br>Medulloblastoma                  | 1                                | 3                                                                                   | HIT SKK                                                                | Нет данных<br>No data available                                                                            | 0                              |
| Всего<br>Total                                      | 16                               | 6 (1–28)                                                                            |                                                                        | 13                                                                                                         | 6                              |

Примечание. ДБКЛ – диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома.

Notes. DLBCL – diffuse large B-cell lymphoma; B-NHL – B-cell non-Hodgkin lymphoma; HL – Hodgkin lymphoma; BL – Burkitt lymphoma; ALL – acute lymphoblastic leukemia.

Рисунок 4

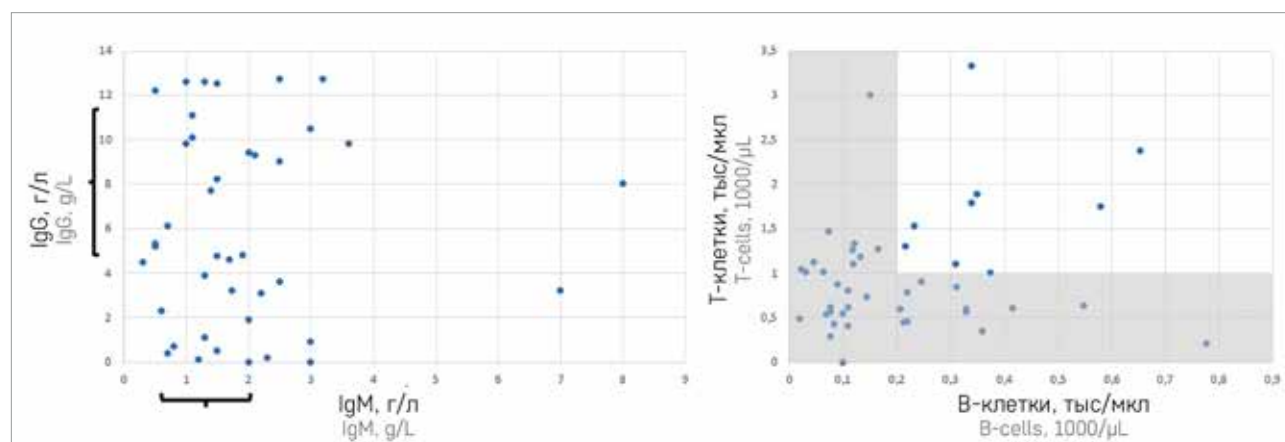
Иммунологические показатели в группе пациентов с синдромом АТ

А – показатели IgG и IgM; Б – показатели Т- и В-лимфоцитов. Серым показана область ниже нормальных значений

Figure 4

Immunological profile in the group of patients with AT syndrome

A – IgG and IgM levels; Б – T- and B-cell levels. Grey color represents an area with T- and B-cell levels below the normal range



симаб, метотрексат, проводилась 11/13 пациентам с ИЛБЛ без стойкого терапевтического эффекта. В последующем этим пациентам была инициирована таргетная терапия ИЛБЛ препаратом абатацепт (ингибитор ко-стимуляции Т-лимфоцитов) в средней дозировке  $13,5 \pm 1,3$  мг/кг каждые 4 нед. Медиана продолжительности лечения составила 4 (0,5–7) года. Через 12 мес лечения все 11 пациентов достигли медикаментозной ремиссии. На момент написания статьи 6 пациентов продолжают терапию и находятся в ремиссии по ИЛБЛ, 5 – умерли от различных осложнений основного заболевания, не связанных с ИЛБЛ. У 2 пациентов, не получавших абатацепт, отмечалась прогрессия ИЛБЛ с развитием дыхательной недостаточности тяжелой степени с последующей декомпенсацией, потребностью в проведении искусственной вентиляции легких и летальным исходом в связи с развившимися инфекционными осложнениями.

У 3 пациентов с артритом отмечена положительная динамика со стороны суставного синдрома на фоне терапии ВВИГ и абатацептом, который они получали в связи с ИЛБЛ.

### Лабораторные данные

Повышенный альфа-фетопротеин ( $> 20$  нг/мл) является основным лабораторным диагностическим критерием АТ, он был констатирован у всех 42 пациентов с доступной информацией о данном параметре и составил 191 (44–830) нг/мл.

Данные об уровнях иммуноглобулинов крови до начала заместительной терапии были доступны у 41 человека. Снижение IgG отмечено у 21/41 (51%), снижение IgA – у 32/41 (78%), повышение IgM – у 17/41 (41%), снижение IgM – у 2/41 (5%) (рисунок 4А). Данные о субпопуляционном составе лимфоцитов отвечали критериям анализа у 47 пациентов.

Рисунок 5

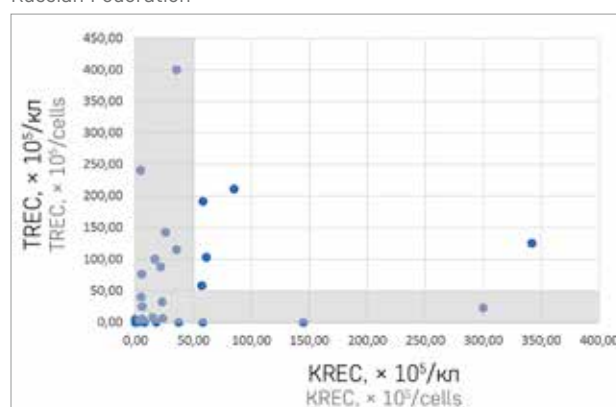
Показатели TREC/KREC

Серым показана область ниже допустимого уровня при проведении неонатального скрининга в Российской Федерации

Figure 5

TREC/KREC values

Grey color represents an area with TREC/KREC levels below the established cut-off values used for newborn screening in the Russian Federation



Снижение Т-лимфоцитов отмечено у 23/47 (49%), снижение В-лимфоцитов – также у 23/47 (49%), однако снижение как Т-, так и В-лимфоцитов – лишь у 17/47 пациентов (рисунок 4Б).

Анализ значений TREC проводился у 33 пациентов в возрасте на момент измерения этих показателей 8 (2–16) лет. Нулевые значения TREC отмечены у 4/33, низкие значения – у 21/33 пациента. Анализ значений KREC проводился у 31 пациента в возрасте на момент измерения этих показателей 8 (2–16) лет. Нулевые значения KREC зафиксированы у 10/31 и сниженные – у 9/31 больных. У 10 пациентов TREC/KREC исследовались более 1 раза, достоверных различий показателей с течением времени ни у одного из них зафиксировано не было. Как минимум один низкий показатель TREC или KREC имели 28/33 пациентов (рисунок 5).



## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В российской литературе имеются публикации, посвященные неврологическим проявлениям АТ [16–18], однако иммуногематологические особенности этого заболевания освещены намного меньше. Именно поэтому в данной работе нами сделан фокус на этом. Тем не менее нельзя не отметить, что при раннем появлении таких типичных для АТ симптомов, как атаксия (медиана дебюта в нашей группе – 1,5 года) и телеангиэктазия (медиана дебюта – 5,2 года), отсрочка диагноза в исследуемой группе составила 4,5 года и у 1 пациентки достигла 17 лет. Этот факт говорит о необходимости проведения образовательных мероприятий среди неврологов, наблюдающих пациентов с АТ. В настоящее время заболевание не имеет куративных опций и сопровождается высокой морбидностью и смертностью. В нашей, преимущественно педиатрической, популяции (медиана возраста пациентов – 10 лет) летальность составила 18%, и в большинстве случаев причиной смерти явились инфекционные осложнения. Эта цифра намного выше 9% летальности, описанной в метаанализе E. Petley и соавт., где медиана возраста была сравнима (12 лет) [1]. Необходимо отметить, что ранняя постановка диагноза АТ позволяет проводить этим пациентам адекватную посиндромную терапию, включая регулярную заместительную терапию препаратами иммуноглобулинов, что, скорее всего, позволит предотвратить некоторые тяжелые/смертельные осложнения. Кроме того, ранняя постановка диагноза первому ребенку в семье дает возможность проведения семейного консультирования и пренатальной диагностики в целях предотвращения рождения других детей с таким тяжелым состоянием. В настоящем исследовании 5 семей имели более одного ребенка с АТ, что, безусловно, является для них тяжелым бременем.

В зависимости от национальных особенностей и пропорции пациентов с легким течением АТ частота тяжелых инфекций варьирует от 50 до 70% [1, 7]. В данном исследовании 24% пациентов страдали от тяжелых инфекций, и в 4 случаях они явились причиной смерти.

Частота (ауто)иммунных проявлений значительно недооценена при АТ. Иммунные цитопении, артрит и ИЛБЛ являлись основными иммунными проявлениями в исследуемой группе и были представлены у половины (51%) пациентов. ИЛБЛ является относительно недавно обозначенной патологией при различных видах первичных иммунодефицитов и отличается значительной гиподиагностикой. Как и продемонстрировано нами ранее [19], у пациентов с АТ ИЛБЛ в основном обусловлена лимфоцитарной

интерстициальной пневмонией, реже в комбинации с фолликулярным бронхолитом. Нами показана эффективность таргетного применения препарата абатацепт в лечении данных форм ИЛБЛ при АТ.

Еще одним частым осложнением является гранулематозное поражение кожи, характерное для пациентов с синдромами нарушения репарации ДНК, включая синдром Ниймеген [20], синдром Луи–Бар. К сожалению, испробованные на сегодняшний день опции терапии не приводили к уменьшению данных проявлений и это осложнение АТ остается нерешенной терапевтической проблемой.

В нашем исследовании у 24% пациентов развились онкологические заболевания. В 35% случаев диагноз АТ был установлен после развития онкологических проявлений. Выявление синдрома АТ у пациента до начала противоопухолевой терапии крайне важно для выбора тактики терапии и предотвращения развития тяжелых токсических осложнений. Исследования показали, что редукция доз химиотерапии позволяет избежать токсических осложнений [21, 22]. У многих наших пациентов диагноз АТ был заподозрен в связи с плохой переносимостью химиотерапии, появлением инфекционных осложнений, а также в связи с развитием вторичных опухолей. Все эти факторы должны настораживать онкологов и позволяют поставить пациентам с первичными иммунодефицитами правильный диагноз. Кроме того, своевременно начатая заместительная терапия препаратами иммуноглобулинов, а также таргетная терапия имеющихся иммунных осложнений улучшают прогноз пациентов с АТ в отношении переносимости химиотерапии. Летальность в нашей группе пациентов с АТ и онкологическими проявлениями составила 43%, что, по нашему мнению, во многом связано с поздней постановкой им основного диагноза.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное исследование демонстрирует возможности эффективной посиндромной терапии осложнений АТ, способствующей увеличению продолжительности жизни этих пациентов при условии своевременной постановки диагноза, включая его иммунологическую составляющую. Исследования, проводимые в других странах, показали возможность выявления АТ в ходе неонатального скрининга с определением ТРЕК [23]. Пилотные проекты с определением как ТРЕК, так и KREC [24] показали снижение обоих показателей у пациента с АТ. В нашем исследовании мы продемонстрировали, что снижение как минимум одного из этих показателей, и, соответственно, возможность диагностики при скрининге составляет 85%. Таким образом, мы считаем, что стартовый в 2023 г. в России скрининг на тяжелые формы первичных имму-



нодефицитов с определением ТРЕК/КРЕК поможет хотя бы частично решить проблему поздней постановки диагноза синдрома АТ. Мультидисциплинарный подход к ведению этих пациентов позволит улучшить качество и продолжительность их жизни.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

#### ORCID

**Asekretova T.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1246-5898>  
**Anderzhanova L.H.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3247-8688>  
**Leontyeva M.E.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0799-1025>  
**Rodina Yu.A.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9857-4456>  
**Panferova A.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8580-3499>  
**Alexenko M.Yu.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2521-5353>  
**Pershin D.E.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6148-7209>  
**Raykina E.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-2053>  
**Lebedev V.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6934-2349>  
**Myakova N.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>  
**Shcherbina A.Yu.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3113-4939>  
**Deripapa E.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9083-4783>

## Литература

- Petley E., Yule A., Alexander S., Ojha S., Whitehouse W.P. The natural history of ataxia-telangiectasia (A-T): A systematic review. *PLoS One* 2022; 17 (3): e0264177. DOI: 10.1371/journal.pone.0264177
- Savitsky K., Bar-Shira A., Gilad S., Rotman G., Ziv Y., Vanagaite L., et al. A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. *Science* 1995; 268 (5218): 1749–53. DOI: 10.1126/science.7792600
- Mavrou A., Tsangaris G.T., Roma E., Kolialexi A. The ATM gene and ataxia telangiectasia. *Anticancer Res* 2008; 28 (1B): 401–5.
- Lee J.H., Paull T.T. Cellular functions of the protein kinase ATM and their relevance to human disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2021; 22 (12): 796–814. DOI: 10.1038/s41580-021-00394-2
- Zhang Y., Lee J.H., Paull T.T., Gehrke S., D'Alessandro A., Dou Q., et al. Mitochondrial redox sensing by the kinase ATM maintains cellular antioxidant capacity. *Sci Signal* 2018; 11 (538): eaq0702. DOI: 10.1126/scisignal.aq0702
- Chow H.M., Cheng A., Song X., Swerdel M.R., Hart R.P., Herrup K. ATM is activated by ATP depletion and modulates mitochondrial function through NRF1. *J Cell Biol* 2019; 218 (3): 909–28
- Amirifar P., Ranjouri M.R., Yazdani R., Abolhassani H., Aghamohammadi A. Ataxia-telangiectasia: A review of clinical features and molecular pathology. *Pediatr Allergy Immunol* 2019; 30 (3): 277–88. DOI: 10.1111/pai.13020
- Bhatt J.M., Bush A., van Gerven M., Nissenkorn A., Renke M., Yarett L., et al. ERS Statement on the Multidisciplinary Respiratory Management of Ataxia Telangiectasia. *Eur Respir Rev* 2015; 24: 565–81. DOI: 10.1183/16000617.0066-2015
- Кондратенко И.В., Кузнецова М.А., Тогоев О.О., Пашенко О.Е., Желудкова О.Г., Пашанов Е.Д. и др. Злокачественные новообразования у больных с атаксией-телеангиэктазией. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2002; 1 (1): 44–7.
- Schon K., van Os N.J.H., Oscroft N., Baxendale H., Scoffings D., Ray J., et al. Genotype, extrapyramidal features, and severity of variant ataxia-telangiectasia. *Ann Neurol* 2019; 85 (2): 170–80. DOI: 10.1002/ana.25394
- Асекретова Т.В., Синеокова А.В., Лебедев В.В., Родина Ю.А., Дери-папа Е.В. Синдром Луи-Бар: семейный клинический случай. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2022; 21(2): 136–40. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-2-136-140
- Swift M., Morrell D., Cromartie E., Chamberlin A.R., Skolnick M.H., Bishop D.T. The incidence and gene frequency of ataxia-telangiectasia in the United States. *Am J Hum Genet* 1986; 39 (5): 573–83.
- Мухина А.А., Кузьменко Н.Б., Родина Ю.А., Хорева А.Л., Моисеева А.А., Швеиц О.А. и др. Эпидемиология первичных иммунодефицитов в Российской Федерации. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского* 2020; 99 (2): 16–32.
- [Электронный ресурс] URL: <https://esid.org/Education/Ataxia-Telangiectasia>. Дата обращения 11.08.2022.
- Buchbinder D., Hauck F., Albert M.H., Rack A., Bakhtiar S., Shcherbina A., et al. Rubella Virus-Associated Cutaneous Granulomatous Disease: a Unique Complication in Immune-Deficient Patients, Not Limited to DNA Repair Disorders. *J Clin Immunol* 2019; 39 (1): 81–9. DOI: 10.1007/s10875-018-0581-0
- Ильченко С.И., Коренюк Е.С., Самойленко И.Г., Иванченко В.И., Паламарчук Н.Ю. Клинический случай синдрома Луи-Бар в сочетании с эпилепсией у подростка. *Международный неврологический журнал* 2015; 6 (76): 188–92.
- Ключников С.А., Иллариошкин С.Н., Маркова Е.Д., Глотова Н.А., Федин П.А., Иванова-Смоленская И.А. Семейный случай атаксии с окуломоторной апраксией: первое наблюдение в российской популяции. *Анналы клинической экспериментальной неврологии* 2007; 1 (2): 34–9.
- Руденская Г.Е., Шагина О.А., Амплеева М.А., Коновалов Ф.А. Атаксия-телеангиэктазия с редким фенотипом и необычной родословной. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова* 2019; 119 (6): 101–10
- Родина Ю.А., Дерипапа Е.В., Швеиц О.А., Мухина А.А., Роппельт А.А., Юхачева Д.В. и др. Опыт применения селективных иммуномодулирующих препаратов в лечении интерстициальной лимфоцитарной болезни легких у детей с первичными иммунодефицитными состояниями. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2018; 17 (3): 50–9.
- Дерипапа Е.В., Родина Ю.А., Лаберко А.Л., Балашов Д.Н., Мякова Н.В., Зимин С.Б. и др. Синдром Ниймеген у детей: клинико-лабораторная характеристика и оценка эффективности различных видов терапии. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского* 2018; 97 (4): 116–24.
- Seidemann K., Henze G., Beck J.D., Sauerbrey A., Kühl J., Mann G., et al. Non-Hodgkin's lymphoma in pediatric patients with chromosomal breakage syndromes (AT and NBS): experience from the BFM trials. *Ann Oncol* 2000; 11 Suppl 1: 141–5.
- Bienemann K., Burkhardt B., Modlich S., Meyer U., Möricke A., Bienemann K., et al. Promising therapy results for lymphoid malignancies in children with chromosomal breakage syndromes (Ataxia telangiectasia or Nijmegen-breakage syndrome): a retrospective survey. *Br J Haematol* 2011; 155 (4): 468–76. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2011.08863.x
- Dorsey M., Puck J. Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency in the US: Current Status and Approach to Management. *Int J Neonatal Screen* 2017; 3 (2): 15. DOI: 10.3390/ijns3020015
- Barbaro M., Ohlsson A., Borte S., Jonsson S., Zetterström R.H., King J., et al. Newborn Screening for Severe Primary Immunodeficiency Diseases in Sweden—a 2-Year Pilot TREC and KREC Screening Study. *J Clin Immunol* 2017; 37 (1): 51–60. DOI: 10.1007/s10875-016-0347-5

© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ  
им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России  
Поступила 27.07.2022  
Принята к печати 29.08.2022

DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-56-64

# Аутовоспалительное заболевание – синдром PFAPA: опыт одного Центра

А.Л. Козлова, М.Е. Леонтьева, П.Т. Велиева, М.П. Калинина, Е.А. Деордиева, О.А. Швец,  
Н.Б. Кузьменко, А.А. Мухина, Н.С. Грачев, Г.А. Новичкова, А.Ю. Щербина

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

## Контактная информация:

Козлова Анна Леонидовна,  
канд. мед. наук, старший научный  
сотрудник отдела оптимизации лечения  
иммунодефицитов ФГБУ «НМИЦ ДГОИ  
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России  
Адрес: 117997, Москва,  
ул. Саморы Машела, 1  
E-mail: annamax-99@mail.ru

Целью настоящей работы был анализ лабораторных и клинических данных 101 пациента (61 мальчик и 40 девочек) с диагнозом «синдром PFAPA/синдром Маршалла». Возраст манифестации синдрома PFAPA составил от 8 до 36 месяцев (медиана – 18 месяцев). Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. В большинстве случаев клинические проявления включали рецидивирующие лихорадки, признаки острого тонзиллита, у 84% пациентов с налетом на миндалинах, шейным лимфаденитом. В меньшем количестве встречались такие клинические проявления, как диарея, рвота, миалгия, артралгия, сыпь. Все пациенты соответствовали критериям G.S. Marshall. Наш опыт ведения пациентов с синдромом PFAPA складывается из симптоматической терапии жаропонижающими препаратами, кратковременной терапии глюкокортикостероидами и тонзиллэктомии. В большинстве случаев к 7 годам наступает полное разрешение клинических проявлений синдрома PFAPA, независимо от варианта проводимой терапии.

**Ключевые слова:** аутовоспалительный синдром, синдром PFAPA, синдром Маршалла, рецидивирующий тонзиллит, периодический синдром, дети

Козлова А.Л. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022; 21 (3): 56–64.  
DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-56-64

© 2022 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 27.07.2022  
Accepted 29.08.2022

## An autoinflammatory disease – PFAPA syndrome: a single-center experience

A.L. Kozlova, M.E. Leontieva, P.T. Velieva, M.P. Kalinina, E.A. Deordieva, O.A. Shvets, N.B. Kuzmenko,  
A.A. Mukhina, N.S. Grachev, G.A. Novichkova, A.Yu. Shcherbina

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

## Correspondence:

Anna L. Kozlova, Cand. Med. Sci.,  
a senior researcher at the Department  
of Treatment Optimization  
for Immunodeficiencies, 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: annamax-99@mail.ru

The aim of this study was to analyze the clinical and laboratory data of 101 patients (61 boys, 40 girls) diagnosed with PFAPA syndrome. The age of onset of PFAPA syndrome ranged from 8 to 36 months (the median age of onset was 18 months). 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. In most cases, clinical manifestations included recurrent fevers, acute tonsillitis (in 84% of cases, the tonsils were covered with a whitish coating), and cervical lymphadenitis. More rarely, the patients had diarrhea, vomiting, myalgia, arthralgia, and rash. All of the patients met the criteria proposed by G.S. Marshall. Our management strategies for patients with PFAPA syndrome include symptomatic treatment with antipyretics, short-term glucocorticosteroid therapy, and tonsillectomy. The majority of patients have complete resolution of PFAPA symptoms by the age of 7 regardless of the type of therapy.

**Key words:** autoinflammatory syndrome, PFAPA, Marshall syndrome, recurrent tonsillitis, periodic syndrome, children

Kozlova A.L., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (3): 56–64.  
DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-56-64

**С**индром PFAPA (Periodic Fevers with Aphthous stomatitis Pharyngitis and Adenitis) – это аутовоспалительное заболевание (ABЗ), характеризующееся периодической лихорадкой, афтозным стоматитом, фарингитом и/или шейным лимфаденитом [1]. Впервые синдром PFAPA был описан в 1987 г.: G.S. Marshall и соавт. представили 12 клинических случаев с периодической лихорадкой, без признаков циклической нейтропении и отставания в развитии и росте [2]. В дальнейшем данное состояние нередко называлось по имени первого автора – синдром Маршалла, однако в международной литературе в настоящее время этот термин практически не употребляется. Синдром PFAPA является наиболее частым ABЗ у детей [1, 3, 4], при этом указать точную распространенность заболевания в популяции не представляется возможным [5–9]. Манифестация заболевания в большинстве случаев приходится на

возраст до 5 лет, его саморазрешение наступает в подростковом возрасте [5, 10–12]. Патогенез заболевания в настоящее время остается неясным [13]. Универсальные генетические дефекты у пациентов с синдромом PFAPA не описаны, и данное состояние относится к полигенным ABЗ. Специфические лабораторные данные для этого синдрома также отсутствуют. Во время приступа у многих, однако далеко не у всех пациентов, в периферической крови наблюдаются признаки умеренного лейкоцитоза с повышением уровней моноцитов и нейтрофилов, снижение уровней лимфоцитов и эозинофилов, тромбоцитоз, а также повышение скорости оседания эритроцитов, уровней С-реактивного белка, сывороточного амилоида A, S100A8/A9 и S100A12 [6, 14–19].

Диагностические критерии синдрома PFAPA, предложенные G.S. Marshall и соавт. [20], включают в себя:

1) рецидивирующие приступы лихорадок с манифестацией до 5 лет;

2) поражение верхних отделов респираторного тракта без признаков инфекции, а также (минимум 1 симптом):

- афтозный стоматит;
- шейный лимфаденит;
- признаки фарингита/тонзиллита;

3) исключение циклической нейтропении;

4) отсутствие симптомов в межприступный период;

5) соответствующее возрасту физическое и нервно-психическое развитие.

В 2019 г. на основании регистра EUROFEVER/PRINTO были модернизированы классификационные критерии для синдрома PFAPA [21], для постановки которого должно быть не менее 7 из 8 предлагаемых признаков.

Наличие:

- фаринготонзиллита;
- продолжительность приступа 3–6 дней;
- шейный лимфаденит;
- периодичность.

Отсутствие:

- диареи;
- боли в грудной клетке;
- сыпи;
- артрита.

Сравнительное гистологическое исследование миндалин пациентов с синдромом PFAPA и пациентов с синдромом обструктивного апноэ сна K. Manthiram и соавт. показало, что миндалины пациентов с синдромом PFAPA имели меньшие по размеру герминативные центры и более широкий плоскоклеточный эпителий, чем у пациентов с обструктивным апноэ сна [22]. Микробиота миндалин также рассматривается как возможный триггер развития приступа, однако роль конкретных микроорганизмов не доказана. С одной стороны, микробиом как первичный фактор может оказывать влияние на запуск патологического процесса воспаления, а с другой – может являться лишь последствием множественных эпизодов воспалительного процесса и результатом многочисленной местной и системной антибактериальной терапии, применяемой у пациентов в процессе долгого диагностического поиска [23]. В настоящее время наиболее эффективными методами терапии являются применение глюкокортикостероидов (ГКС) в целях купирования приступа и хирургическое лечение (аденотонзилл-/тонзиллэктомия) [4, 6, 12, 24–31].

В статье представлены клинические и лабораторные данные группы пациентов с синдромом PFAPA, а также проведена оценка эффективности и безопасности проводимой терапии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Пациенты

В работе обобщены данные пациентов, наблюдавшихся в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России с 2012 г. по декабрь 2021 г. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Изначально в исследование были включены 128 пациентов с диагнозом «синдром PFAPA», отвечающих последним классификационным критериям регистра EUROFEVER/PRINTO [21]. Однако при последующем анализе данных число пациентов было сокращено до 101, что было связано с выявлением при проведении дополнительных исследований у некоторых из них других диагнозов: другие формы АВЗ, включая моногенные, нейтропении, в том числе тяжелая врожденная нейтропения, и др. (таблица 1).

Таблица 1

Причины исключения из исследования пациентов с синдромом PFAPA, отвечающих критериям регистра EUROFEVER/PRINTO

Table 1  
Reasons for the exclusion of patients with PFAPA syndrome who meet the EUROFEVER/PRINTO classification criteria from our study

| Причина исключения<br>Reason for the exclusion                                                                                                                                                                                                                             | Число пациентов<br>(n = 27)<br>Number of patients<br>(n = 27) |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| Моногенные формы АВЗ:<br>Monogenic autoinflammatory diseases (AIDs):<br>синдром дефицита мевалонаткиназы (МКД)<br>mevalonate kinase deficiency (MKD)<br>TNF-рецептор-ассоциированный<br>периодический синдром (TRAPS)<br>TNF receptor associated periodic syndrome (TRAPS) | 3<br>1                                                        |
| Нейтропения<br>Neutropenia                                                                                                                                                                                                                                                 | 2                                                             |
| Старший возраст<br>Older age                                                                                                                                                                                                                                               | 5                                                             |
| Первичный иммунодефицит неуточненный<br>Unspecified primary immune deficiency                                                                                                                                                                                              | 5                                                             |
| АВЗ недифференцированное<br>Undifferentiated AID                                                                                                                                                                                                                           | 6                                                             |
| Воспалительное заболевание кишечника<br>Inflammatory bowel disease                                                                                                                                                                                                         | 1                                                             |
| Острый лимфобластный лейкоз<br>Acute lymphoblastic leukemia                                                                                                                                                                                                                | 1                                                             |
| Пузырно-мочеточниковый рефлюкс<br>Vesicoureteral reflux                                                                                                                                                                                                                    | 2                                                             |
| Термоневроз<br>Thermoneurosis                                                                                                                                                                                                                                              | 1                                                             |

### Молекулярно-генетическое исследование

Молекулярно-генетическое исследование в виде полного экзомного секвенирования, таргетных панелей NGS, а также исследования отдельных генов (*MEFV*, *NLRP3*, *TNFRSF1A*, *MVK*) было проведено 32/101 пациентам. Особенное внимание в виде поиска моногенной формы АВЗ было уделено пациентам, в клинической картине которых присутство-

вали нетипичные для синдрома PFAPA проявления, такие как сыпь, артралгия, миалгия.

### Статистический анализ

Статистический анализ данных проводился с использованием программы Excel Microsoft Office 2010 и статистического пакета R 3.4 (R Core Team, Австрия). Для описания количественных данных использовались абсолютные значения признака и проценты, для описания количественных непрерывных данных – медиана и среднее арифметическое с указанием разброса и среднестатистического отклонения. Разница считалась достоверной при  $p < 0,01$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Клиническая характеристика пациентов

Для проведения окончательного анализа были использованы данные 101 пациента с синдромом PFAPA. По демографическим показателям преобладали мальчики ( $n = 61$ , 60%), медиана возраста начала заболевания в группе составила 18 (8–36) месяцев, медиана возраста постановки диагноза – 42 (31–63) месяца. У 20% (20/101) пациентов имел место отягощенный семейный анамнез в виде наличия у родственников первой линии рецидивирующего стоматита, фарингита/тонзиллита, периодических подъемов температуры (таблица 2).

Таблица 2

Общая характеристика пациентов, включенных в исследование ( $n = 101$ )

Table 2  
General characteristics of the patients included in the study ( $n = 101$ )

| Показатель<br>Parameter                                                                                    | Значение<br>Value |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| Пол, $n$ (%):<br>Sex, $n$ (%):                                                                             |                   |
| мальчики<br>male                                                                                           | 61 (60)           |
| девочки<br>female                                                                                          | 40 (40)           |
| Возраст начала заболевания (Me (Q1;Q3)), месяцы<br>Age at disease onset (Me (Q1;Q3)), months               | 18 (8;36)         |
| Возраст постановки диагноза (Me (Q1;Q3)), месяцы<br>Age at diagnosis (Me (Q1;Q3)), months                  | 42 (31;63)        |
| Отягощенный семейный анамнез, $n$ (%)<br>Positive family history, $n$ (%)                                  | 20 (20)           |
| Молекулярно-генетическое исследование (NGS, WES), $n$ (%)<br>Molecular genetic testing (NGS, WES), $n$ (%) | 33 (32)           |

У всех пациентов отмечались периодические подъемы температуры тела с медианой продолжительности 4,5 (4–5) дня и медианой межприступного периода 30 (22–30) дней (таблица 3). Медиана максимальной температуры во время приступа достигала 40°C (39–40°C). В межприступный период клинические проявления пациентов не беспокоили, что согласуется с критериями G.S. Marshall [20]. Отставаний в психомоторном развитии отмечено также не было. Помимо периодических подъемов температуры тела

92/101 пациентов беспокоил тонзиллит, 59/101 – шейный лимфаденит, 52/101 – фарингит и 47/101 – стоматит (таблица 3). Тонзиллит во время приступа в 84% (85/92) случаев сопровождался белесоватым налетом на миндалинах (таблица 3, рисунок 1).

В 10 случаях в мазке из зева была выявлена патогенная микрофлора: *Staphylococcus aureus* – 3, *Escherichia coli* – 2, *Candida albicans* – 3, *Streptococcus viridans* + *Staphylococcus aureus* – 1, *Acinetobacter* + *Staphylococcus aureus* + *Haemophilus influenzae* – 1.

Помимо типичных симптомов синдрома PFAPA во время приступа у пациентов с меньшей частотой были отмечены дополнительные клинические проявления, такие как диарея 14/101, рвота 5/101, боли в мышцах 5/101 и суставах 6/101, ринит – 3/101, головная боль – 3/101, кашель – 3/101. У 4/101 пациентов во время приступа отмечены кожные высыпания, которые не требовали дополнительной терапии, не сопровождалась зудом и самостоятельно проходили после купирования приступа (таблица 3).

Таблица 3

Общая и клиническая характеристика проявлений у пациентов с синдромом PFAPA в период приступа ( $n = 101$ )

Table 3

General characteristics and clinical manifestations of PFAPA syndrome in the patients during an episode ( $n = 101$ )

| Показатель<br>Parameter                                                                   | Значение<br>Value |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| Межприступный период (Me (Q1;Q3)), дни<br>Interval between episodes (Me (Q1;Q3)), days    | 30 (22;30)        |
| Продолжительность приступа (Me (Q1;Q3)), дни<br>Duration of an episode (Me (Q1;Q3)), days | 4,5 (4;5)         |
| Лихорадка, $n$ (%)<br>Fever, $n$ (%)                                                      | 101 (100)         |
| Тонзиллит, $n$ (%):<br>Tonsillitis, $n$ (%):                                              | 92 (91)           |
| с налетом<br>with a coating                                                               | 85 (84)           |
| без налета<br>without a coating                                                           | 7 (6,9)           |
| Шейный лимфаденит, $n$ (%)<br>Cervical lymphadenitis, $n$ (%)                             | 59 (58)           |
| Фарингит, $n$ (%)<br>Pharyngitis, $n$ (%)                                                 | 52 (51)           |
| Стоматит, $n$ (%)<br>Stomatitis, $n$ (%)                                                  | 47 (47)           |
| Боль в животе, $n$ (%)<br>Abdominal pain, $n$ (%)                                         | 33 (32,7)         |
| Диарея, $n$ (%)<br>Diarrhea, $n$ (%)                                                      | 14 (14)           |
| Ринит, $n$ (%)<br>Rhinitis, $n$ (%)                                                       | 3 (3)             |
| Отит, $n$ (%)<br>Otitis, $n$ (%)                                                          | 6 (6)             |
| Артралгия, $n$ (%)<br>Arthralgia, $n$ (%)                                                 | 6 (6)             |
| Рвота, $n$ (%)<br>Vomiting, $n$ (%)                                                       | 5 (5)             |
| Экзантема, $n$ (%)<br>Exanthema, $n$ (%)                                                  | 4 (4)             |
| Миалгии/мышечная слабость, $n$ (%)<br>Myalgia/muscle weakness, $n$ (%)                    | 5 (5)             |
| Головная боль, $n$ (%)<br>Headache, $n$ (%)                                               | 3 (3)             |
| Кашель, $n$ (%)<br>Cough, $n$ (%)                                                         | 3 (3)             |

**Рисунок 1**  
Ротоглотка пациента с синдромом PFAPA во время приступа

**Figure 1**  
The oropharynx of a patient with PFAPA syndrome during an episode



### Лабораторные данные

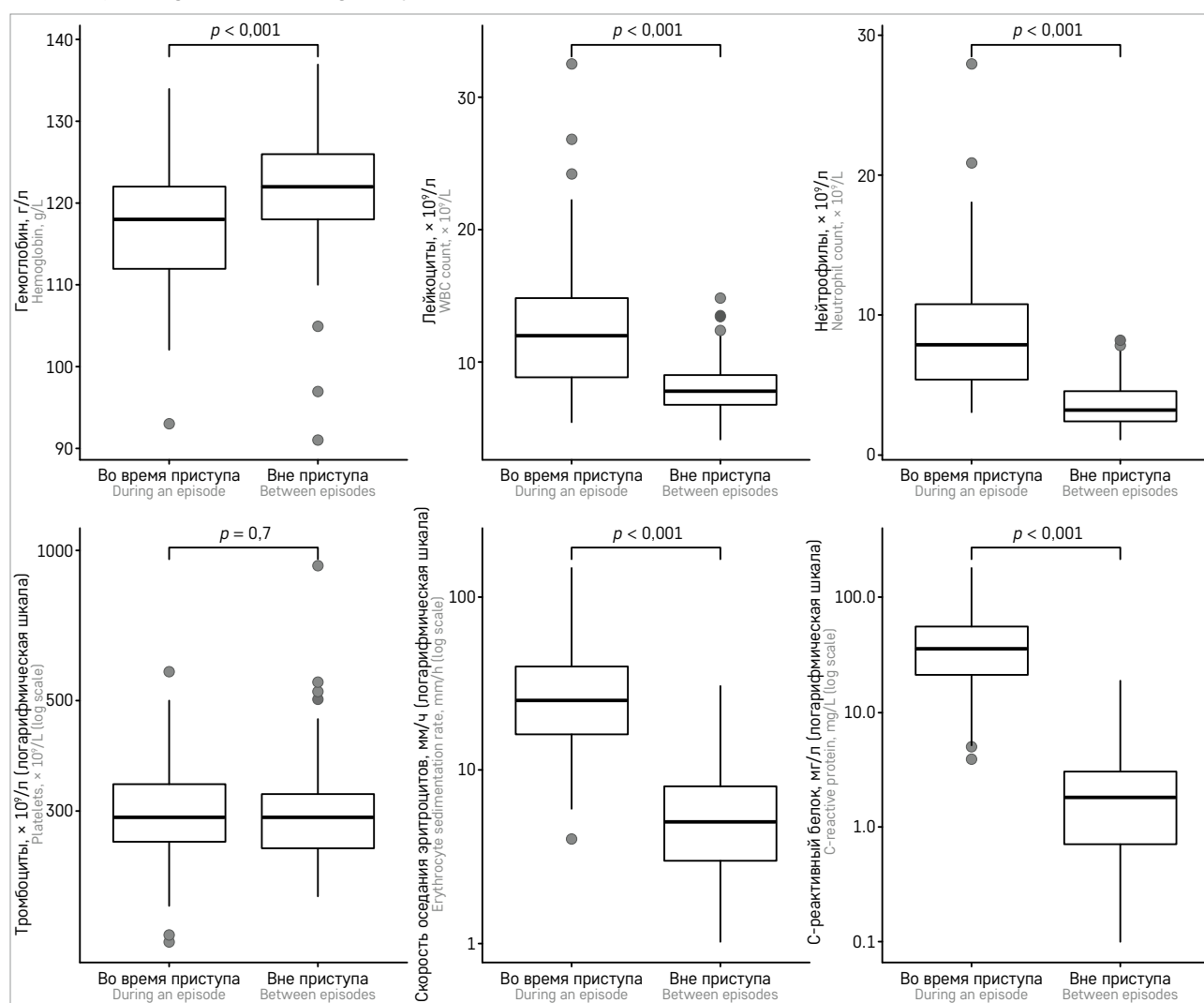
По данным лабораторных методов исследования во время приступа у пациентов отмечалась общевоспалительная реакция в виде повышения

острофазовых белков крови: скорость оседания эритроцитов максимально до 150 мм/ч, сывороточная концентрация С-реактивного белка максимально до 193 мг/л. Также отмечался лейкоцитоз с нейтрофилезом: максимально до  $32,5 \times 10^9/\text{л}$  и  $28,9 \times 10^9/\text{л}$  соответственно. Гипохромная анемия (минимально до 93 г/л), а также тромбоцитоз (до  $570 \times 10^9/\text{л}$ ) были отмечены у 1 пациента. При оценке остальных показателей во время приступа значимых отклонений выявлено не было. В межприступный период гипохромная анемия (минимально до 91 г/л), а также тромбоцитоз (до  $934 \times 10^9/\text{л}$ ) были отмечены у 3 и 4 пациентов соответственно, в остальных случаях выраженных изменений в крови не отмечалось (рисунок 2).

По результатам проведенного молекулярно-генетического исследования в исследуемой группе пациентов с синдромом PFAPA выявлено 13 генетических вариантов, которые не могли быть охарактеризованы как причинные в отношении соответствующих моно-

**Рисунок 2**  
Лабораторные показатели во время приступа и межприступный период у пациентов с синдромом PFAPA

**Figure 2**  
Laboratory findings obtained during the episodes of PFAPA and between them





генных АВЗ. Роль выявленных генетических вариантов в развитии синдрома PFAPA в настоящее время не ясна (таблица 4).

**Таблица 4**

Выявленные генетические варианты у пациентов с синдромом PFAPA ( $n = 13$ )

**Table 4**  
Genetic variants identified in the patients with PFAPA syndrome ( $n = 13$ )

| Генетический вариант<br>Genetic variant | Значение<br>Number |
|-----------------------------------------|--------------------|
| MEFV c.2080A>G p.Met694Val het          | 3                  |
| MEFV c.1223G>A p.Arg408Gln het          | 1                  |
| MEFV c.1105C>T p.Pro369Ser het          | 1                  |
| MEFV c.2177T>C p.Val726Ala het          | 1                  |
| MEFV c.2230G>T p.Ala744Ser het          | 1                  |
| MEFV c.501G>C p.Glu167Asp het           | 1                  |
| MEFV c.1437C>G p.Phe479Leu het          | 1                  |
| NLRP3 c.592G>A p.Val198Met het          | 2                  |
| ADA2 c.100C>T p.Arg34Trp het            | 1                  |
| STXBP2 c.601C>T p.Arg201Cys het         | 1                  |

Нами был проведен сравнительный анализ клинической картины пациентов с синдромом PFAPA с различными выявленными генетическими вариантами, ассоциированными с АВЗ, – группа 1 ( $n = 13$ ) (таблица 4) и пациентов, которым также проводилось генетическое обследование, но генетические варианты в генах АВЗ выявлены не были – группа 2 ( $n = 20$ ). При сравнительном анализе (таблица 5) у пациентов группы 1 и группы 2 отмечаются сходные продолжительность приступа и межприступного периода, а также частота развития таких клинических проявлений, как тонзиллит, фарингит. У пациентов группы 2 по сравнению с группой 1 чаще встречались симптомы шейного лимфаденита, стоматита и болей в животе – 13 (65%), 10 (50%) и 10 (50%) соответственно (таблица 5).

### Лечение

До верификации диагноза все пациенты (100%) во время приступа принимали жаропонижающие препараты, лишь в 24/101 случаях терапия была эффективна. До включения в исследование 92/101 пациента принимали жаропонижающие препараты в комбинации с антибактериальным препаратом, комбинация расценена родителями неэффективной в 84/92 случаях. После постановки диагноза «синдром PFAPA» всем пациентам была предложена терапия ГКС, на которую согласились 87/101 родителей, остальные продолжили принимать жаропонижающие препараты во время приступов. У большинства пациентов (75/87, 86%) приступ был купирован приемом преднизолона в дозе 1 мг/сут однократно (таблица 6).

У всех пациентов ( $n = 87$ ) кратковременный прием ГКС полностью купировал приступ заболевания. Продолжительность межприступного периода на фоне кратковременного приема ГКС осталась неизменной у 34/87 (39%) пациентов, межприступный

**Таблица 5**

Сравнительная характеристика пациентов с диагностически незначимыми генетическими вариантами генов АВЗ (группа 1) и пациентов без таких вариантов (группа 2)

**Table 5**

A comparative analysis of patients with diagnostically insignificant genetic variants associated with AIDs (group 1) vs patients without such variants (group 2)

| Показатель<br>Parameter                                                                                        | Группа 1<br>( $n = 13$ )<br>Group 1<br>( $n = 13$ ) | Группа 2<br>( $n = 20$ )<br>Group 2<br>( $n = 20$ ) | $p$   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-------|
| Межприступный период (Ме (Q1;Q3)), дни<br>Time between episodes (Me (Q1;Q3)), days                             | 25 (22;30)                                          | 25 (22;30)                                          | 0,6   |
| Продолжительность приступа (Ме (Q1;Q3)), дни<br>Duration of an episode (Me (Q1;Q3)), days                      | 5 (4;6)                                             | 5 (4;6)                                             | 0,9   |
| Тонзиллит, $n$ (%):<br>Tonsillitis, $n$ (%):<br>с налетом<br>with a coating<br>без налета<br>without a coating | 11<br>10 (77)<br>1 (7,7)                            | 17<br>15 (75)<br>2 (10)                             | > 0,9 |
| Шейный лимфаденит, $n$ (%)<br>Cervical lymphadenitis, $n$ (%)                                                  | 6 (46)                                              | 13 (65)                                             | 0,3   |
| Фарингит, $n$ (%)<br>Pharyngitis, $n$ (%)                                                                      | 7 (54)                                              | 10 (50)                                             | 0,4   |
| Стоматит, $n$ (%)<br>Stomatitis, $n$ (%)                                                                       | 5 (38)                                              | 11 (55)                                             | 0,4   |
| Боль в животе, $n$ (%)<br>Abdominal pain, $n$ (%)                                                              | 5 (38)                                              | 10 (50)                                             | 0,8   |
| Диарея, $n$ (%)<br>Diarrhea, $n$ (%)                                                                           | 3 (23)                                              | 5 (25)                                              | > 0,9 |
| Ринит, $n$ (%)<br>Rhinitis, $n$ (%)                                                                            | 1 (7,7)                                             | 1 (5)                                               | –     |
| Отит, $n$ (%)<br>Otitis, $n$ (%)                                                                               | 1 (7,7)                                             | 0                                                   | –     |
| Артралгия, $n$ (%)<br>Arthralgia, $n$ (%)                                                                      | 2 (15)                                              | 2 (10)                                              | –     |
| Рвота, $n$ (%)<br>Vomiting, $n$ (%)                                                                            | 1 (7,7)                                             | 2 (10)                                              | –     |
| Кожные проявления (экзантема), $n$ (%)<br>Skin manifestations (exanthema), $n$ (%)                             | 2 (15)                                              | 1 (5)                                               | –     |
| Миалгия/мышечная слабость, $n$<br>Myalgia/muscle weakness, $n$                                                 | 1                                                   | 0                                                   | –     |
| Головная боль, $n$ (%)<br>Headache, $n$ (%)                                                                    | 2 (15)                                              | 0                                                   | –     |

**Таблица 6**

Терапия у пациентов с синдромом PFAPA

**Table 6**

Therapy for the patients with PFAPA

| Группа пациентов<br>Group of patients                                       | Число пациентов, $n$<br>Number of patients, $n$ | Доза преднизолона/объем оперативного вмешательства<br>Dose of prednisolone/extent of surgery | Число пациентов, $n$ (%)<br>Number of patients, $n$ (%) |
|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Кратковременная терапия ГКС<br>Short-term glucocorticosteroid (GCS) therapy | 87                                              | 1 мг/кг<br>1 mg/kg                                                                           | 75 (86)                                                 |
|                                                                             |                                                 | 1,5 мг/кг<br>1.5 mg/kg                                                                       | 10 (11)                                                 |
|                                                                             |                                                 | 2 мг/кг<br>2 mg/kg                                                                           | 2 (2,3)                                                 |
| Оперативное вмешательство<br>Surgery                                        | 34                                              | Тонзиллэктомия<br>Tonsillectomy                                                              | 25 (74)                                                 |
|                                                                             |                                                 | Аденотонзиллэктомия<br>Adenotonsillectomy                                                    | 7 (21)                                                  |
|                                                                             |                                                 | Аденотомия<br>Adenoidectomy                                                                  | 2 (6)                                                   |

период сократился у 19/87 (22%), увеличился у 34/87 (39%). В связи с сохраняющимися приступами 34/101 (33,6%) пациентам проведено оперативное лечение: 25/34 (74%) – тонзиллэктомия, 7/34 (21%) – тонзиллэктомия, совмещенная с аденотомией, 2/34 (6%) – аденотомия (таблица 5). Медиана возраста проведения оперативного вмешательства составила 5,3 (3,4–6,75) года. Методом криодеструкции миндалин тонзиллэктомия проводилась 4/25 пациентам, что не привело к стабилизации состояния и приступы сохранились. В последующем в связи с продолжающимися приступами всем 4 пациентам проведена двухсторонняя тонзиллэктомия.

У 2 пациентов, которым была проведена изолированная аденотомия, ремиссии приступов отмечено не было, одному из них в последующем была проведена тонзиллэктомия.

Возобновление приступов лихорадки после тонзиллэктомии отмечено у 10/33 (30%) пациентов. Однако у 7/10 было отмечено более «мягкое» течение приступов в виде урежения приступов (удлинения межприступного периода) и повышения температуры тела не более 38,0°C.

Медиана возраста полного окончания приступов у 75/101 пациентов составила 7 (5,5–8) лет.

В группе пациентов с выявленным носительством генетических вариантов ( $n = 13$ ) кратковременную терапию ГКС получали 12/13 пациентов, в 9/12 случаях с положительным эффектом в виде полного купирования приступов, 3/12 пациентам в последующем была проведена тонзиллэктомия. Возобновление приступов через 8 мес после тонзиллэктомии отмечено у 1/3 пациента. Родители 1/13 пациента отказались от терапии ГКС, продолжили прием нестероидных противовоспалительных средств (НПВС). Медиана прекращения/значительного урежения приступов у 12/13 пациентов составила 8 (7,25–8,2) лет, в 5/12 случаях родители отмечают редкие, менее выраженные приступы.

За 10-летнее наблюдение было выделено 3 основных линии терапии: пациенты, у которых приступ был купирован жаропонижающими препаратами ( $n = 12$ ), пациенты, принимающие кратковременную терапию ГКС ( $n = 54$ ), пациенты, перенесшие оперативное вмешательство ( $n = 34$ ) (рисунок 3). Одному пациенту было проведено оперативное лечение (тонзиллэктомия) без предшествующей терапии ГКС. Прекращение приступов лихорадки в группе пациентов, принимающих симптоматическую жаропонижающую терапию, наблюдалось на третьем году наблюдения, максимальное время длительности приступных периодов в этой группе составило более 10 лет. У самой многочисленной группы пациентов на кратковременной терапии ГКС купирование приступов на первом году приема отмечено в 4 случаях, на

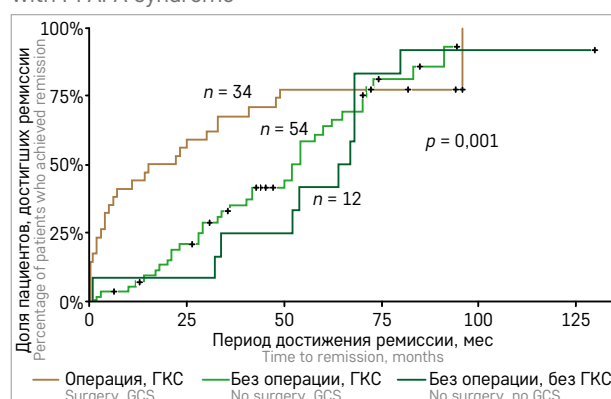
втором году – в 8, максимальное время длительности приступов в этой группе составило 7 лет 8 мес. У 13 пациентов после тонзиллэктомии приступы были купированы в течение первых 6 мес после оперативного вмешательства, еще у 2 – к 1 году наблюдения. Максимальная длительность приступов в этой группе составила 7 лет 8 мес (рисунок 3).

**Рисунок 3**

Оценка эффективности терапии у пациентов с синдромом PFAPA

**Figure 3**

The evaluation of treatment effectiveness in the patients with PFAPA syndrome



## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Синдром PFAPA стоит на первом месте по частоте встречаемости среди всех АВЗ [1, 3, 4]. Сложность ведения таких пациентов состоит прежде всего в верификации диагноза, так как на ранних этапах клинические проявления моногенных форм АВЗ, а также других состояний могут быть похожими на синдром PFAPA. В нашем исследовании в связи с неоднозначностью существующих критериев диагностики в группу пациентов с синдромом PFAPA ошибочно были определены дети с моногенными формами АВЗ и не только. В связи с этим мы сделали заключение, что критерии диагностики синдрома PFAPA, принятые относительно недавно EUROFEVER/PRINTO [21], менее точны, чем более строгие первоначальные критерии G.S. Marshall [20]. В нашем исследовании каждый пятый пациент (20%) имеетотягощенный семейный анамнез в виде наличия родственников первой линии с рецидивирующими стоматитами, фарингитами/тонзиллитами, периодическими подъемами температуры тела, что соответствует подобным международным наблюдениям [32, 33]. В 2015 г. S.A. Di Gioia и соавт. проведено полное экзомное секвенирование 68 пациентов с синдромом PFAPA из 14 семей, по результату которого не удалось идентифицировать генетический дефект, общий для пациентов группы [1, 33]. В 2020 г. опубликованы данные исследования К. Manthiram и соавт., включавшие 231 пациента с

синдромом PFAPA, рецидивирующим стоматитом и болезнью Бехчета. Исследование выявило генетические варианты риска всех трех состояний вблизи с генами *IL12A*, *IL10*, *STAT4* и *CCR1-3*, в связи с чем было предложено называть эти заболевания спектром болезни Бехчета, где рецидивирующий афтозный стоматит относится к легкому проявлению, синдром PFAPA рассматривается как промежуточный синдром и болезнь Бехчета – как наиболее тяжелое течение заболевания [34, 35]. Однако, несмотря на ряд генетических исследований, направленных на поиск наследственных дефектов, говорить о достоверных причинно-значимых вариантах в настоящее время еще не приходится. Патогенез синдрома PFAPA также остается до конца не ясным, в связи с чем выбор терапии крайне вариативен. Поскольку рандомизированных клинических исследований по терапии синдрома PFAPA в мировой практике не проводилось, стандартизированного протокола лечения в настоящее время также нет [36]. Наиболее эффективным вариантом терапии в международной практике в настоящее время является кратковременное назначение терапии ГКС (однократная доза преднизолона 1–2 мг/кг), что отражается в достижении эффективности в 80–95% случаев [1, 4, 6, 12, 24]. Наше исследование также подтверждает высокую эффективность кратковременного приема ГКС – у всех пациентов был ответ на терапию, однако в дальнейшем в 22% случаев отмечалось сокращение межприступного интервала и учащение приступов, что в большинстве случаев потребовало проведения тонзиллэктомии. В 2020 г. рабочей группой CARRA (Childhood Arthritis and Rheumatology Research Alliance) [25] был предложен терапевтический алгоритм ведения пациентов с синдромом PFAPA, заключающийся в поэтапном назначении жаропонижающих препаратов, ГКС, профилактическом приеме колхицина или циметидина и проведении тонзиллэктомии. Однако профилактическое назначение циметидина или колхицина имеет достаточно низкую эффективность, всего лишь 19% [25], в связи с этим данные препараты нами не использовались. Применение НПВС рассматривается как один из возможных вариантов лечения, особенно в случае, если родители обеспокоены побочными эффектами ГКС или рисками, ассоциированными с тонзиллэктомией. В большинстве случаев НПВС не способны полностью купировать приступ, а лишь обладают кратковременным эффектом снижения температуры тела и облегчения состояния пациента [8]. Наш опыт ведения пациентов с синдромом PFAPA складывается из 3 основных линий: симптоматическая терапия жаропонижающими препаратами, кратковременная терапия ГКС, оперативное вмешательство в виде проведения тонзиллэктомии, исключая альтерна-

тивные варианты в виде криодеструкции или лазеротерапии. Все 3 этапа могут следовать друг за другом с поэтапным определением ответа на терапию и обсуждением последующего варианта лечения при необходимости.

Отдельную группу в нашем исследовании составили пациенты с носительством различных генетических вариантов в генах, ассоциированных с АВЗ, роль которых в развитии и течении синдрома PFAPA в настоящее время не установлена. Клинические характеристики пациентов были сопоставимы с больными без генетических вариантов, однако стоит отметить, что в этой группе сохраняется недостаточная эффективность терапии ГКС и есть случай неэффективности тонзиллэктомии. Все эти данные требуют дальнейшего изучения и наблюдения. Необходимо также отметить, что не редкостью уже является наличие PFAPA-подобного фенотипа у пациентов с моногенными формами АВЗ, которые включают семейную средиземноморскую лихорадку (FMF), MKD, TRAPS. FMF следует заподозрить при периодических болях в животе, артралгиях, сыпи, а также при отсутствии фарингита/тонзиллита, афтозного стоматита, шейного лимфаденита [17, 28]. Клинические проявления пациентов с MKD чаще связаны с болью в животе, диареей, спленомегалией и пятнисто-папулезной сыпью [21, 37, 38]. Пациенты с TRAPS обычно имеют дополнительно офтальмологические признаки (конъюнктивит, периорбитальный отек), боли в животе, спленомегалию, сыпь, а также более продолжительные приступы, которые могут достигать 3 нед [1, 39]. Пациентам с нетипичным течением синдрома PFAPA необходимо проведение молекулярно-генетического исследования в целях поиска моногенных форм АВЗ. При подозрении на MKD помимо молекулярно-генетического исследования необходимо проведение функционального исследования – определение экскреции мевалоновой кислоты в моче [1, 38]. Совокупность исследований позволяет верифицировать моногенную форму АВЗ в более ранние сроки. Помимо моногенных форм АВЗ PFAPA-подобные клинические проявления могут наблюдаться и при циклической нейтропении [40], в связи с чем рекомендована оценка уровня нейтрофилов не только во время приступа, но и в межприступный период [1].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синдром PFAPA является наиболее частой причиной периодической лихорадки в детстве и может оказывать значительное влияние на качество жизни ребенка, а также его семьи. Несмотря на распространенность заболевания патогенез остается неясным, генетические дефекты, объясняющие механизмы

развития заболевания, не выявлены. Стандартизированных протоколов терапии синдрома PFAPA также в настоящее время нет. Однако результаты нашего исследования и международные данные свидетельствуют все-таки в пользу того, что синдром PFAPA является заболеванием с благоприятным прогнозом, нуждающимся в продолжении исследования.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

#### ORCID

**Kozlova A.L.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2869-6535>

**Leontyeva M.E.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0799-1025>

**Velieva P.T.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9275-4261>

**Kalinina M.P.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6839-3918>

**Deordieva E.A.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8208-2075>

**Shvets O.A.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5347-7150>

**Kuzmenko N.B.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1669-8621>

**Mukhina A.A.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3305-1694>

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

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

**Shcherbina A.Yu.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3113-4939>

## Литература

- Wang A., Manthiram K., Dedeoglu F., Licameli G.R. Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenitis (PFAPA) syndrome: A review. *World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg* 2021; 7 (3): 166–73. DOI: 10.1016/j.wjorl.2021.05.004.
- Marshall G.S., Edwards K.M., Butler J., Lawton A.R. Syndrome of periodic fever, pharyngitis, and aphthous stomatitis. *J Pediatr* 1987; 110 (1): 43–6. DOI: 10.1016/s0022-3476(87)80285-8
- Gattorno M., Caorsi R., Meini A., Cattalini M., Federici S., Zulian F. Differentiating PFAPA Syndrome From Monogenic Periodic Fevers. *Pediatrics* 2009; 124 (4): e721–8. DOI: 10.1542/peds.2009-0088
- Król P., Böhm M., Sula V., Dytrych P., Kutra R., Nemcová D., et al. PFAPA syndrome: clinical characteristics and treatment outcomes in a large single-centre cohort. *Clin Exp Rheumatol* 2013; 31 (6): 980–7.
- Kastner D.L., Aksentijevich I., Goldbach-Mansky R. Autoinflammatory Disease Reloaded: A Clinical Perspective. *Cell* 2010; 140 (6): 784–90.
- Feder H., Salazar J. A clinical review of 105 patients with PFAPA (a periodic fever syndrome). *Acta Paediatr* 2010; 99(2):178–84. DOI: 10.1111/j.1651-2227.2009.01554.x
- Førsvoll J., Kristoffersen E.K., Øymar K. Incidence, clinical characteristics and outcome in Norwegian children with periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and cervical adenitis syndrome; a population-based study. *Acta Paediatr* 2013; 102 (2): 187–92.
- Wurster V.M., Carlucci J.G., Feder H.M. Jr, Edwards K.M. Long-Term Follow-Up of Children with Periodic Fever, Aphthous Stomatitis, Pharyngitis, and Cervical Adenitis Syndrome. *J Pediatr* 2011; 159 (6): 958–64.
- Kuznetsova M.A., Zryachkin N.I., Tsareva Yu.A., Elizarova T.V., Zakharova G.R. The PFAPA syndrome: current paradigm and a clinical case description. *Alm Clin Med* 2018; 46 (2): 184–93. DOI:10.18786/2072-0505-2018-46-2-184-193
- Padeh S., Breznick N., Zemer D., Pras E., Livneh A, Langevitz P., et al. Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenopathy syndrome: Clinical characteristics and outcome. *J Pediatr* 1999; 135 (1): 98–101.
- Thomas K.T., Feder H.M. Jr, Lawton A.R., Edwards K.M. Periodic fever syndrome in children. *J Pediatr* 1999; 135 (1): 15–21. DOI: 10.1016/s0022-3476(99)70321-5
- Ter Haar N., Lachmann H., Özgen S., Woo P., Uziel Y., Modesto C., et al. Treatment of autoinflammatory diseases: results from the Eurofever Registry and a literature review. *Ann Rheum Dis* 2013; 72 (5): 678–85. DOI: 10.1136/annrheumdis-2011-201268
- Hofer M. Why and How Should We Treat Periodic Fever, Aphthous Stomatitis, Pharyngitis, and Cervical Adenitis (PFAPA) Syndrome? *Pediatr Drugs* 2020; 22 (3): 243–50.
- Brown K.L., Wekell P., Osla V., Sundqvist M., Sävman K., Fasth A., et al. Profile of blood cells and inflammatory mediators in periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and adenitis (PFAPA) syndrome. *BMC Pediatr* 2010; 10 (1): 65. DOI: 10.1186/1471-2431-10-65
- Kolly L., Busso N., von Scheven-Gete A., Bagnoud N., Moix I., Holzinger D., et al. Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, cervical adenitis syndrome is linked to dysregulated monocyte IL-1 $\beta$  production. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131 (6): 1635–43. DOI: 10.1016/j.jaci.2012.07.043
- Mahamid M., Agbaria K., Mahamid A., Nseir W. Vitamin D linked to PFAPA syndrome. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2013; 77 (3): 362–4. DOI: 10.1016/j.ijporl.2012.11.027
- Gunes M., Cekiç S., Kilic S.S. Is colchicine more effective to prevent periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and cervical adenitis episodes in Mediterranean fever gene variants? *Pediatr Int* 2017; 59 (6): 655–60.
- Sundqvist M., Wekell P., Osla V., Bylund J., Christenson K., Sävman K., et al. Increased Intracellular Oxygen Radical Production in Neutrophils During Febrile Episodes of Periodic Fever, Aphthous Stomatitis, Pharyngitis, and Cervical Adenitis Syndrome: Neutrophil Function in PFAPA Syndrome. *Arthritis Rheum* 2013; 65 (11): 2971–83.
- Козлова А.Л., Барабанова О.В., Калинина М.П., Щербина А.Ю. Ауто-

- воспалительные синдромы в педиатрии (обзор литературы и собственные клинические наблюдения). *Доктор.Ру* 2015; 10 (111): 38–45.
20. Marshall G.S., Edwards K.M., Lawton A.R. PFAPA syndrome. *Pediatr Infect Dis J* 1989; 8 (9): 658–9. DOI: 10.1097/00006454-198909000-00026
  21. Gattorno M., Hofer M., Federici S., Vanoni F., Bovis F., Aksentijevich I., et al. Classification criteria for autoinflammatory recurrent fevers. *Ann Rheum Dis* 2019; 78 (8): 1025–32. DOI: 10.1136/annrheumdis-2019-215048
  22. Manthiram K., Correa H., Boyd K., Roland J., Edwards K. Unique histologic features of tonsils from patients with periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis (PFAPA) syndrome. *Clin Rheumatol* 2018; 37 (5): 1309–17. DOI: 10.1007/s10067-017-3773-8
  23. Tejesvi M.V., Uhari M., Tapiainen T., Pirttilä A.M., Suokas M., Lantto U., et al. Tonsillar microbiota in children with PFAPA (periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenitis) syndrome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016; 35 (6): 963–70. DOI: 10.1007/s10096-016-2623-y
  24. Ibáñez Alcalde M. de las M., Caldevilla Asenjo L., Calvo Rey C., García-Mon Marañés F., Blázquez Gamero D., Saavedra Lozano J., et al. Characteristics and Disease Course in a Cohort of Children With PFAPA Syndrome in the Community of Madrid, Spain. *Reumatol Clin (Engl Ed)* 2019; 15 (6): 355–9. DOI: 10.1016/j.reuma.2017.10.015
  25. Amarilyo G., Rothman D., Manthiram K., Edwards K.M., Li S.C., Marshall G.S., et al. Consensus treatment plans for periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and adenitis syndrome (PFAPA): a framework to evaluate treatment responses from the childhood arthritis and rheumatology research alliance (CARRA) PFAPA work group. *Pediatr Rheumatol* 2020; 18 (1): 31. DOI: 10.1186/s12969-020-00424-x
  26. Butbul Aviel Y., Tatour S., Gershoni Baruch R., Brik R. Colchicine as a therapeutic option in periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, cervical adenitis (PFAPA) syndrome. *Semin Arthritis Rheum* 2016; 45 (4): 471–4. DOI: 10.1016/j.semarthrit.2015.07.005
  27. Dusser P., Hentgen V., Neven B., Koné-Paut I. Is colchicine an effective treatment in periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, cervical adenitis (PFAPA) syndrome? *Joint Bone Spine* 2016; 83 (4): 406–11. DOI: 10.1016/j.jbspin.2015.08.017
  28. Butbul Aviel Y., Harel L., Abu Rumi M., Brik R., Hezkelo N., Ohana O., et al. Familial Mediterranean Fever Is Commonly Diagnosed in Children in Israel with Periodic Fever Aphthous Stomatitis, Pharyngitis, and Adenitis Syndrome. *J Pediatr* 2019; 204: 270–4. DOI: 10.1016/j.jpeds.2018.08.080
  29. Burton M.J., Pollard A.J., Ramsden J.D., Chong L.-Y., Venekamp R.P. Tonsillectomy for periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and cervical adenitis syndrome (PFAPA). *Cochrane Database Syst Rev* 2019; 12 (12): CD008669. DOI: 10.1002/14651858.CD008669.pub3
  30. Renko M., Salo E., Putto-Laurila A., Saxen H., Mattila P.S., Luotonen J., et al. A Randomized, Controlled Trial of Tonsillectomy in Periodic Fever, Aphthous Stomatitis, Pharyngitis, and Adenitis Syndrome. *J Pediatr* 2007; 151 (3): 289–92. DOI: 10.1016/j.jpeds.2007.03.015
  31. Garavello W., Romagnoli M., Gaini R.M. Effectiveness of Adenotonsillectomy in PFAPA Syndrome: A Randomized Study. *J Pediatr* 2009; 155 (2): 250–3.
  32. Cochard M., Clet J., Le L., Pillet P., Onrubia X., Guéron T., et al. PFAPA syndrome is not a sporadic disease. *Rheumatology (Oxford)* 2010; 49 (10): 1984–7. DOI: 10.1093/rheumatology/keq187
  33. Gioia S.A.D., Bedoni N., von Scheven-Gête A., Vanoni F., Superti-Furga A., Hofer M., et al. Analysis of the genetic basis of periodic fever with aphthous stomatitis, pharyngitis and cervical adenitis (PFAPA) syndrome. *Sci Rep* 2015; 5 (1): 10200. DOI: 10.1038/srep10200
  34. Manthiram K., Preite S., Dedeoglu F., Demir S., Ozen S., Edwards K.M., et al. Common genetic susceptibility loci link PFAPA syndrome, Behçet's disease, and recurrent aphthous stomatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020; 117 (25): 14405–11. DOI: 10.1073/pnas.2002051117
  35. Kirino Y., Bertsias G., Ishigatsubo Y., Mizuki N., Tugal-Tutkun I., Seyahi E., et al. Genome-wide association analysis identifies new susceptibility loci for Behçet's disease and epistasis between HLA-B\*51 and ERAP1. *Nat Genet* 2013; 45 (2): 202–7. DOI: 10.1038/ng.2520
  36. Batu E.D., Dedeoglu F. Periodic Fever, Aphthous Stomatitis, Pharyngitis, and Cervical Adenitis (PFAPA) Syndrome. In: Efthimiou P. (ed.). *Auto-Inflammatory Syndromes*. Cham: Springer International Publishing; 2019. Pp. 213–226.
  37. Bader-Meunier B., Florkin B., Sibilia J., Acquaviva C., Hachulla E., Grateau G., et al. Mevalonate Kinase Deficiency: A Survey of 50 Patients. *Pediatrics* 2011; 128 (1): e152–9. DOI: 10.1542/peds.2010-3639
  38. Kozlova A.L., Bludova V.O., Burakov V., Raykina E., Varlamova T., Kurnikova M.A., et al. Mevalonate kinase deficiency syndrome: Single center experience. *Rheumatol Sci Pract* 2021; 59 (3): 326–34.
  39. Batu E.D., Sönmez H.E., Bilginer Y., Özen S. A patient heterozygous for r92q mutation with periodic fever and aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenitis (pfapa) syndrome-like phenotype. *Turk J Pediatr* 2018; 60 (6): 726–8. doi: 10.24953/turkjped.2018.06.014
  40. Dale D.C., Welte K. Cyclic and Chronic Neutropenia. *Cancer Treat Res* 2011; 157: 97–108. doi: 10.1007/978-1-4419-7073-2\_6



DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-65-76

# MECOM-ассоциированный синдром: обзор литературы и собственные клинические наблюдения

М.Х. Гуржиханова<sup>1</sup>, Г.И. Шестопалов<sup>1</sup>, М.С. Васильева<sup>1</sup>, У.Н. Петрова<sup>1</sup>, К.С. Антонова<sup>1</sup>, Д.В. Федорова<sup>1</sup>, Н.Н. Коцкая<sup>1</sup>, С.А. Радыгина<sup>1</sup>, Л.Б. Лубсанова<sup>2</sup>, Е.К. Донуш<sup>3</sup>, О.С. Финк<sup>3</sup>, Е.А. Пристанкова<sup>3</sup>, Е.В. Скоробогатова<sup>3</sup>, А.В. Павлова<sup>1</sup>, М.А. Курникова<sup>1</sup>, Е.В. Сунцова<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ГБУЗ «Детская республиканская клиническая больница» Министерства здравоохранения Республики Бурятия, Улан-Удэ

<sup>3</sup>Обособленное структурное подразделение Российской детской клинической больницы ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Мутации в гене *MECOM* (локус комплекса *MDS1* и *EVI1*) являются одной из причин развития редкой комбинации врожденного радиоульнарного синосто́за, приводящего к крайне ограниченной пронации и супинации предплечий, и амегакариоцитарной тромбоцитопении. Клинический спектр заболевания может варьировать от изолированного радиоульнарного синосто́за без гематологических проявлений до тяжелой костномозговой недостаточности без скелетных аномалий. Также могут отмечаться другие фенотипические проявления: клинодактилия, брахидактилия, пороки развития сердца и почек, пресенильная тугоухость и В-клеточный дефицит. Принимая во внимание разнообразие фенотипических проявлений данного заболевания, предложено использование термина «*MECOM*-ассоциированный синдром» для всех пациентов с мутациями в гене *MECOM*. В статье представлено 3 случая пациентов детского возраста с *MECOM*-ассоциированным синдромом, имеющих различные клинические проявления, описаны процесс постановки диагноза, варианты терапии и исходы. Родители пациентов дали согласие на использование информации, в том числе фотографий детей, в научных исследованиях и публикациях.

**Ключевые слова:** врожденная амегакариоцитарная тромбоцитопения, врожденная апластическая анемия, панцитопения, радиоульнарный синосто́з

Гуржиханова М.Х. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022; 21 (3): 65–76. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-65-76

## MECOM-associated syndrome: a literature review and case reports

M.Kh. Gurchikhanova<sup>1</sup>, G.I. Shestopalov<sup>1</sup>, M.S. Vasilyeva<sup>1</sup>, U.N. Petrova<sup>1</sup>, K.S. Antonova<sup>1</sup>, D.V. Fedorova<sup>1</sup>, N.N. Kotskaya<sup>1</sup>, S.A. Radygina<sup>1</sup>, L.B. Lubsanova<sup>2</sup>, E.K. Donyush<sup>3</sup>, O.S. Fink<sup>3</sup>, E.A. Pristanskova<sup>3</sup>, E.V. Skorobogatova<sup>3</sup>, A.V. Pavlova<sup>1</sup>, M.A. Kurnikova<sup>1</sup>, E.V. Suntsova<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Children's Republican Clinical Hospital of Ministry of Healthcare of the Republic of Buryatia, Ulan-Ude

<sup>3</sup>Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Mutations in the *MECOM* gene (*MDS1* and *EVI1* complex locus) may be one of the causes of a rare combination of congenital radioulnar synostosis resulting in extremely limited forearm pronation and supination, and amegakaryocytic thrombocytopenia. The clinical spectrum of the disease can range from isolated radioulnar synostosis with or without hematologic manifestations to severe bone marrow failure without skeletal abnormalities. Other phenotypic manifestations include clinodactyly, brachydactyly, cardiac and renal malformations, presenile hearing loss, and B-cell deficiency. In view of the heterogeneity of phenotypic manifestations of the disease, the term “*MECOM*-associated syndrome” was proposed for all patients with mutations in the *MECOM* gene. Here we report 3 pediatric cases of *MECOM*-associated syndrome with different clinical manifestations, diagnostic approaches, therapeutic options, and outcomes. The patient's parents agreed to use the information, including the child's photo, in scientific research and publications.

**Key words:** congenital amegakaryocytic thrombocytopenia, inherited bone marrow failure, pancytopenia, radioulnar synostosis

Gurchikhanova M.Kh., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (3): 65–76. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-65-76

© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России  
Поступила 14.01.2022  
Принята к печати 04.02.2022

### Контактная информация:

Гуржиханова Медина Хароновна, ординатор ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России  
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1  
E-mail: medina.gurchikhanova@fccho-moscow.ru

© 2022 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 14.01.2022

Accepted 04.02.2022

### Correspondence:

Medina Kh. Gurchikhanova, a resident at the 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: medina.gurchikhanova@fccho-moscow.ru

**М**ЕCOM-ассоциированный синдром – редкое генетически детерминированное заболевание с вариабельными фенотипическими проявлениями, основными из которых являются врожденная амегакариоцитарная тромбоцитопения (АТ) и радио-

ульнарный синосто́з (РУС) [1]. В научной медицинской литературе этот термин впервые появился в 2018 г., пополнив существующий список врожденных тромбоцитопений (ВТ) [2]. ВТ представляют собой гетерогенную группу редких заболеваний, для которых

характерны врожденные количественные ± качественные дефекты тромбоцитов и склонность к кровоточивости различной степени выраженности [3]. Отдельные формы ВТ обладают рядом характерных клинических и лабораторных особенностей, позволяющих дифференцировать их друг от друга [3–5]. По фенотипическим проявлениям ВТ подразделяют на 3 подгруппы [6]: 1) формы с изолированными дефектами тромбоцитов (количественные ± качественные) и кровоточивостью; 2) синдромальные формы, при которых дефекты тромбоцитов сочетаются с дополнительными негематологическими признаками; 3) формы с предрасположенностью к прогрессированию в другие гематологические заболевания (миелодиспластический синдром, острый лейкоз, костномозговая недостаточность) или к развитию тяжелых негематологических состояний в течение жизни. Этиологическая роль при ВТ принадлежит генетическим факторам. Поскольку в процесс тромбоцито- и мегакариоцитопоэза вовлечено множество генов, кодирующих факторы транскрипции, белки цитоскелета, мембранные рецепторы и сигнальные белки, которые регулируют созревание и дифференцировку мегакариоцитов, а также образование и высвобождение тромбоцитов, то возникновение мутаций в любом из этих генов может приводить к развитию разнообразных форм ВТ [7–9]. Список генов, ответственных за развитие различных форм ВТ, постепенно пополняется, и на сегодняшний день известно более 40 таких генов [6, 9]. Для систематизации известных форм ВТ наиболее удобной представляется классификация, сопоставляющая обнаруженные молекулярно-генетические варианты с характерными клиническими и лабораторными особенностями [5]. В современной классификации представлено 4 формы ВТ, имеющие предрасположенность к прогрессированию до тяжелой костномозговой недостаточности, требующей проведения трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) [5–9].

РУС с АТ (РУСАТ) – одна из генетически детерминированных форм ВТ, характеризующаяся врожденным проксимальным синостозом лучевой и локтевой костей, приводящим к крайне ограниченному пронации и супинации предплечий, и ВТ, которая может прогрессировать до панцитопении [10]. Описано 2 подтипа РУСАТ: РУСАТ1 и РУСАТ2. Первым идентифицированным генетическим дефектом при РУСАТ стал гетерозиготный вариант в гомеобоксном гене *HOXA11* (RUSAT1; MIM #605432) [11]. Известно, что ген *HOXA11* кодирует ДНК-связывающий транскрипционный фактор из группы гомеобоксных генов (кластер А). Гены *HOX* кодируют ДНК-связывающие белки, которые регулируют экспрессию генов, дифференцировку клеток и морфогенез [12, 13]. Позвоночные имеют 4 варианта кластеров *HOX*-генов

(*HOXA*, *HOXB*, *HOXC* и *HOXD*). Исследования показывают, что гены *HOX* участвуют в различных аспектах кроветворения, включая самообновление, пролиферацию, дифференцировку и лейкогенез [10]. Высокий уровень *HOXA10* приводит к тотальному блоку дифференцировки эритроцитов и мегакариоцитов путем активации *HOXA5*, результатом чего является накопление их общего предшественника – мегакариоцит-эритроидной клетки-предшественника. Также гиперэкспрессия *HOXA10* может приводить к недостаточности *Gata-1*, что, в свою очередь, тоже ведет к нарушению нормального эритро- и мегакариоцитопоэза [14]. Кроме того, в исследованиях на мышах доказана связь мутаций *HOXA10* и *HOXD11* с развитием конечностей в эмбриогенезе, и у особей с мутациями имеются фенотипические аномалии в виде укорочения лучевой/локтевой кости и костей запястья [15]. В 2000 г. в литературе впервые было опубликовано описание патогенного варианта *HOXA11*, идентифицированного у 6 человек из 2 различных семей. Примечателен тот факт, что в обеих семьях у отцов отмечались скелетные аномалии верхних конечностей без гематологических нарушений, при этом 4 ребенка имели сходные скелетные аномалии в сочетании с тяжелой тромбоцитопенией, прогрессирующей у 3 из них до костномозговой недостаточности [11, 16]. Однако после выявления этих семей больше не был описан ни один пациент с патогенным вариантом гена *HOXA11*, приводящим к развитию РУСАТ.

Позднее, в 2010 г., был описан клинический случай младенца, у которого на 10-м месяце жизни диагностировали синдром костномозговой недостаточности и выявили РУС [17]. Ребенку было проведено молекулярно-генетическое исследование, но, несмотря на клиническую картину, схожую с описанными ранее случаями при РУСАТ1, мутаций в гене *HOXA11* обнаружено не было. Исследователями сделан вывод, что в основе РУСАТ могут лежать и другие генетические варианты, помимо мутаций в гене *HOXA11* [17]. Данная гипотеза была подтверждена в 2015 г. Т. Niihori и соавт. В целях поиска генетической причины развития заболевания было выполнено полноэкзомное секвенирование пациентке, имеющей клиническую картину РУСАТ, но без мутации в гене *HOXA11*, и ее здоровым родителями. В результате у ребенка была идентифицирована *de novo* миссенс-мутация в гене *MECOM* (*EVI1*), которая привела к замене аминокислоты p.Thr756Ala. Впоследствии целенаправленный анализ этого гена выявил еще 2 миссенс-мутации в гене *MECOM* – с.2252A>G (p.His751Arg) и с.2248C>T (p.Arg750Trp) – у двух других детей с РУСАТ. Все 3 идентифицированные мутации приводят к изменениям в 8-м цинковом пальце белка EVI1, что, в свою очередь,

нарушает процесс формирования его третичной структуры и взаимосвязи с другими белками. EVI1 содержит 7 Cys2His2 цинковых пальцев в N-концевом домене и 3 пальца в С-концевом домене (рисунк 1).

Таким образом, у 3 неродственных пациентов с РУСАТ была доказана связь с мутациями в локусе *MECOM* (комплексный locus генов *MDS1* и *EVI1*) (RUSAT2; MIM #616738) (рисунк 2) [18, 19].

Ген *MECOM* кодирует транскрипционный фактор, участвующий в гемопоэзе, апоптозе, клеточной пролиферации и дифференцировке клеток [20]. Как уже было сказано, все 3 выявленные мутации в исследовании Т. Niihori и соавт. приводили к изменениям белка EVI1. Белок EVI1 является регулятором транскрипции и онкопротеином, участвует в кроветворении, апоптозе, развитии, дифференцировке и пролиферации клеток костного мозга, включая мегакариоциты. Этот ген может подвергаться транслокации с геном *AML1*, что приводит к его чрезмерной экспрессии и возникновению ряда гемобластозов и солидных новообразований [21].

В исследовании М. Germeshausen и соавт. описано 12 клинических случаев обнаружения мутаций в локусе *MECOM* у пациентов с ВТ. Все мутации затрагивали различные функциональные домены белка EVI1 [2]. Одновременно еще в серии статей было описано около 20 клинических случаев пациентов с синдромом костномозговой недостаточности, имеющих мутации в локусе *MECOM* [1, 2, 21–23]. Эти публикации демонстрируют, что, несмотря на врожденный характер РУСАТ, возраст постановки диагноза пациентам с мутациями в гене *MECOM* может варьировать от периода новорожденности до 13 лет [2]. Наличие характерных особенностей развития верхних конечностей, геморрагических проявлений и изменений в гемограмме у ближайших родственников пациента помогает заподозрить эту форму ВТ. Например, в исследовании А. Walne и соавт. упоминаются 3 ребенка из 1 семьи, в которой среди родственников имелись случаи РУС без эпизодов кровотечений (дед, прадед). У детей РУСАТ2 был предположен только после целенаправленных рентгенологических исследований предплечий и изучения гемограмм с ручным пересчетом количества тромбоцитов (варьировало от нормального значения до тяжелой тромбоцитопении). На основании выявленной мутации в гене *MECOM* диагноз был подтвержден на молекулярно-генетическом уровне [10]. Однако отсутствие характерного семейного анамнеза не исключает РУСАТ2, поскольку некоторые формы могут возникать *de novo*. Гетерогенность фенотипических проявлений РУСАТ2 также затрудняет своевременную диагностику этой формы ВТ. При гематологическом

**Рисунок 1**

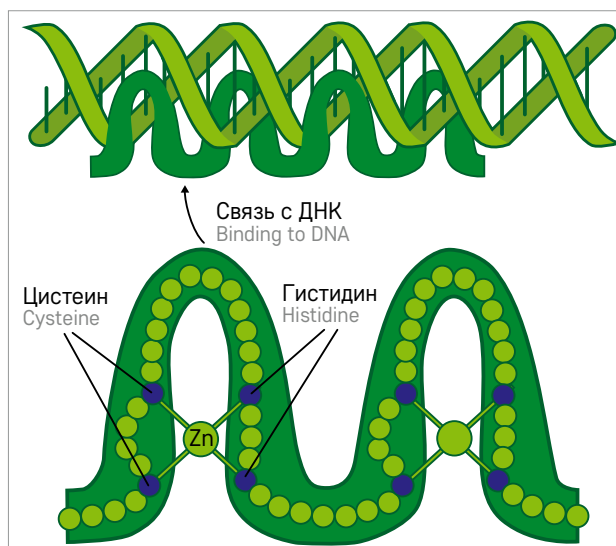
#### Структура цинковых пальцев

Цинковый палец – название домена, связанное с его структурой: определенные аминокислотные остатки, взаимодействуя с ионом цинка, выпетливаются в виде пальца. В каждом цинковом пальце молекула цинка расположена между 2 цистеинами на одном конце и 2 гистидинами на другом конце (мотив Cys2His2(C2H2)), стабилизируя пространственную структуру белка. Домен типа «цинковый палец» часто встречается у белков, взаимодействующих с ДНК или РНК. В составе 1 белка число цинковых пальцев может варьировать в широких пределах, обеспечивая вариативность мишеней-последовательностей ДНК для связывания

**Figure 1**

#### Zinc finger structure

Zinc finger: the name of the domain is associated with its structure: certain amino acid residues interact with a zinc ion and bulge out in the form of a finger. In each zinc finger, a zinc molecule is located between 2 cysteines at one end and 2 histidines at the other end (the Cys2His2(C2H2) motif), stabilizing the spatial structure of the protein. The zinc finger domain is often found in proteins that interact with DNA or RNA. The number of zinc fingers can vary widely within a single protein, providing variability in target DNA sequences for binding



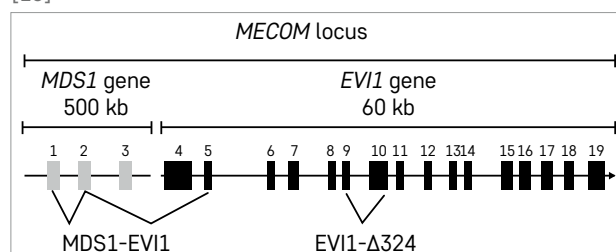
**Рисунок 2**

#### Схема локуса *MECOM*

Белок *MECOM* имеет ряд изоформ (EVI1-145kDa, EVI1-Δ324 и MDS1-EVI1), которые регулируют экспрессию друг друга. Так, EVI1-145kDa повышает экспрессию EVI1-транскриптов, а EVI1-Δ324 и MDS1-EVI1 снижают ее. Альтернативный сплайсинг между 2-м экзоном MDS1 и 2-м экзоном EVI1 (MDS1-EVI1), а также выпадение фрагмента EVI1 (EVI1-Δ324) обозначено линией [18]

**Figure 2**

The *MECOM* protein has several isoforms (EVI1-145kDa, EVI1-Δ324, and MDS1-EVI1) that regulate each other's expression. EVI1-145 kDa upregulates EVI1 transcripts and EVI1-Δ324 and MDS1-EVI1 downregulate EVI1 transcripts. Alternative splicing between the 2<sup>nd</sup> exon of MDS1 and the 2<sup>nd</sup> exon of EVI1 (MDS1-EVI1), and the loss of the EVI1 fragment (EVI1-Δ324) are indicated by a line [18]



обследовании изолированная тромбоцитопения часто отмечается уже с рождения, однако ее выраженность может варьировать в широком диапазоне: от клинически незначимой, выявленной случайно, до тяжелой, сопровождающейся развитием жизнеугрожающих кровотечений [1, 2, 10]. По данным мазка периферической крови тромбоциты имеют нормальные размеры [17, 24].

В течение первых 5 лет жизни у ~50% пациентов изолированная тромбоцитопения прогрессирует до панцитопении [2, 5]. На ранних сроках заболевания клеточность костного мозга может быть сохранена, но при проведении морфологического исследования аспирата костного мозга на более поздних сроках у пациентов с мутациями *MECOM* отмечено сниженное количество мегакариоцитов, вплоть до полного их отсутствия [2, 17, 21]. Также в литературе описаны случаи, когда у пациентов уже при рождении выявлялись панцитопения (без предшествующей тромбоцитопении), которая потребовала проведения ТГСК детям первого года жизни [2]. И, напротив, был случай, когда у ребенка с тяжелой костномозговой недостаточностью в первые дни жизни произошло спонтанное улучшение через несколько недель [2].

Более того, из публикаций видно, что классическое сочетание РУС с АТ имели не все пациенты, тем самым не полностью соответствуя аббревиатуре РУСАТ. При этом они могли иметь другие фенотипические проявления, такие как клинодактилия, порок сердца, патология почек, пресенильная тугоухость и нарушение в В-клеточном звене иммунной системы (таблица 1). Приняв во внимание все накопленные клинические и молекулярно-генетические данные, группой ученых под руководством М. Germeshausen в 2018 г. было предложено объединить всех пациентов, имеющих патогенную мутацию в гене *MECOM* (подтип РУСАТ2), вне зависимости от наличия или отсутствия у них аномалий верхних конечностей и/или костномозговой недостаточности, в одну группу, названную «*MECOM*-ассоциированный синдром» (*MECOM*-АС) [2].

Лечение *MECOM*-АС, как и при многих других ВТ, зависит от тяжести цитопении и клинических прояв-

лений. При нетяжелой изолированной тромбоцитопении пациенты находятся под наблюдением, при тяжелой тромбоцитопении используют гемостатическую терапию, включая заместительные трансфузии тромбоконцентратом. В случаях прогрессирования тромбоцитопении в костномозговую недостаточность единственным куративным методом терапии является аллогенная ТГСК (алло-ТГСК). В исследовании М. Germeshausen [2] из 12 пациентов один родился с панцитопенией, но в течение первых недель жизни у него произошло спонтанное улучшение показателей гемограммы и сохранилась только изолированная тромбоцитопения легкой степени, не требующая лечения (РУС у ребенка был диагностирован в возрасте 3 лет), второй пациент с тяжелой костномозговой недостаточностью и нарушением функции В-лимфоцитов умер от сепсиса до проведения алло-ТГСК. Остальным 10 детям была проведена алло-ТГСК в возрасте от 3 месяцев до 13 лет (от совместимого неродственного донора – 7, от совместимого родственного донора – 1, последовательно от совместимого родственного донора и неродственного донора – 1, неродственная пуповинная кровь – 1). Фенотипически 5 из них помимо РУС имели дополнительные аномалии скелета: гипоплазию фаланг пальцев, клинодактилию, дисплазию тазобедренных суставов; у 4 были отмечены нарушения слуха, вплоть до полной глухоты; у 3 – пороки сердца; у 1 – сочетание множества пороков (аномалии скелета, тетрада Фалло, глухота). В исходе ТГСК: 7 пациентов (в возрасте от 3 месяцев до 13 лет) трансплантированы успешно, 3 самых маленьких ребенка (от 3 до 10,5 месяца) умерли в посттрансплантационном периоде от инфекционных осложнений.

Другим относительно крупным исследованием является работа Р. Castillo-Caro [17], в которой сообщается о 9 пациентах с *MECOM*-АС. Семь детей получили алло-ТГСК (родственный донор – 2, неродственный донор – 5). Шестерым пациентам ТГСК была проведена в возрасте от 8 недель до 1 года. Трансплантат успешно прижился у 5 детей, а 2 умерли от инфекционных осложнений в посттрансплантационном периоде.

Также в литературе опубликованы отдельные клинические случаи пациентов с генетически подтвержденным *MECOM*-АС, которым проводилась алло-ТГСК. В общей сложности имеются данные о трансплантации еще 11 пациентов [19, 21, 22, 23], 9 из которых были успешны. Смерть одного из пациентов с диагностированной тетрадой Фалло наступила в раннем посттрансплантационном периоде от инфекционных осложнений и сердечной недостаточности [23]. Второй ребенок с пороком сердца умер от сердечной недостаточности спустя 13 лет после алло-ТГСК [23].

**Таблица 1**  
Фенотипические проявления *MECOM*-АС

Table 1

Phenotypic manifestations of *MECOM*-AS

| Частые<br>Common                                                                                                             | Более редкие<br>Less common                                                                                                                                                                             |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Тромбоцитопения<br>Thrombocytopenia<br>Костномозговая недостаточность<br>Bone marrow failure<br>РУС<br>Radioulnar synostosis | Аномалии кистей<br>Hand anomalies<br>Пороки сердца<br>Heart malformations<br>Нефропатия<br>Nephropathy<br>Тугоухость<br>Hearing loss<br>В-лимфопения<br>B-lymphopenia<br>Лейкемогенез<br>Leukemogenesis |

Помимо терапии гематологических проявлений пациентам с врожденными деформациями конечностей, приводящими к нарушению их функции, может потребоваться проведение реконструктивных ортопедических операций [25]. Детям с сердечными мальформациями проводят оперативные вмешательства, направленные на компенсацию и исправление пороков сердца, так как данная проблема может стать причиной летального исхода как до, так и после проведения успешной ТГСК [2, 21, 23].

## КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ

Приводим клинические наблюдения 3 пациентов с предварительным диагнозом «врожденная тромбоцитопения/костномозговая недостаточность», у которых при проведении молекулярно-генетического исследования методом высокопроизводительного секвенирования (next generation sequencing, NGS) с использованием таргетной панели «Костномозговая недостаточность» были выявлены патогенные варианты в гене *MECOM*. Родители пациентов дали согласие на использование информации, в том числе фотографий детей, в научных исследованиях и публикациях.

В таблице 2 суммированы основные клинические и молекулярно-генетические характеристики пациентов.

### Клинический случай №1

Мальчик, 1 год. Родился на 40-й неделе беременности с нормальными весоростовыми показателями. При осмотре в родильном зале отмечены врожденные пороки развития лицевого скелета, характерные для синдрома Пьера Робена: широкая переносица, низко расположенные уши, микрогнатия, микроглоссия, глоссоптоз, расщелина твердого и мягкого неба. В первые сутки жизни обратили внимание на появление петехиальной сыпи на коже и снижение числа тромбоцитов до  $32 \times 10^9/\text{л}$ . При тщательном сборе семейного анамнеза среди родственников ребенка случаи тромбоцитопении или аномалий костной системы выявлены не были, старшие дети обоих родителей от предыдущих браков здоровы. В связи с нарастанием геморрагического синдрома на 3-и сутки жизни проведена заместительная гемотрансфузия тромбоконцентратом, отмечалось повышение числа тромбоцитов до  $149 \times 10^9/\text{л}$ . На 7-е сутки жизни ребенок был госпитализирован в детскую региональную клиническую больницу, где была продолжена заме-

Таблица 2  
Клинические характеристики пациентов с мутациями в гене *MECOM*

Table 2  
Clinical characteristics of the patients with *MECOM* mutations

| Параметр<br>Parameter                                                            | Пациент 1<br>Patient 1                                                                                                                                                                                                                                                        | Пациент 2<br>Patient 2                                                                                                               | Пациент 3<br>Patient 3                                                                           |
|----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Пол<br>Gender                                                                    | Мужской<br>Male                                                                                                                                                                                                                                                               | Мужской<br>Male                                                                                                                      | Женский<br>Female                                                                                |
| Возраст диагностики <i>MECOM</i> -АС<br>Age at the diagnosis of <i>MECOM</i> -AS | 4 месяца<br>4 months                                                                                                                                                                                                                                                          | 3 года<br>3 years                                                                                                                    | 12 лет<br>12 years                                                                               |
| Возраст обнаружения тромбоцитопении<br>Age at the diagnosis of thrombocytopenia  | При рождении<br>At birth                                                                                                                                                                                                                                                      | При рождении<br>At birth                                                                                                             | 2 года<br>2 years                                                                                |
| Возраст развития апластической анемии<br>Age of onset of bone marrow failure     | 2 месяца<br>2 months                                                                                                                                                                                                                                                          | 3 года<br>3 years                                                                                                                    | 12 лет<br>12 years                                                                               |
| Семейный анамнез<br>Family history                                               | Нет<br>No                                                                                                                                                                                                                                                                     | Да<br>Yes                                                                                                                            | Нет<br>No                                                                                        |
| РУС<br>Radioulnar synostosis                                                     | Нет<br>No                                                                                                                                                                                                                                                                     | Да<br>Yes                                                                                                                            | Да<br>Yes                                                                                        |
| Другие аномалии скелета<br>Other skeletal malformations                          | Синдром Пьера Робена: широкая переносица, низко расположенные уши, микрогнатия, микроглоссия, глоссоптоз, расщелина твердого и мягкого неба<br>Pierre Robin syndrome: broad nasal bridge, low-set ears, micrognathia, microglossia, glossoptosis, cleft hard and soft palates | Двусторонняя клинодактилия мизинцев<br>Bilateral clinodactyly of the little fingers                                                  | Нет<br>No                                                                                        |
| Пороки внутренних органов<br>Internal organ anomalies                            | Врожденный порок сердца<br>Congenital heart defect                                                                                                                                                                                                                            | Нет<br>No                                                                                                                            | Нет<br>No                                                                                        |
| Слух<br>Hearing                                                                  | Двусторонняя тугоухость<br>Bilateral hearing loss                                                                                                                                                                                                                             | Норма<br>Normal                                                                                                                      | Норма<br>Normal                                                                                  |
| Мутации в гене <i>MECOM</i><br><i>MECOM</i> gene mutation                        | c.985delA/p.(Ser329Valfs*13) – ранее не описана<br>c.985delA/p.(Ser329Valfs*13) – not previously described                                                                                                                                                                    | c.2286-2A>G – ранее не описана<br>c.2286-2A>G – not previously described                                                             | c.2243T>C/p.(Leu748Pro) – ранее не описана<br>c.2243T>C/p.(Leu748Pro) – not previously described |
| Лечение<br>Therapy                                                               | Гаплоидентичная ТГСК от матери<br>Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation from the mother                                                                                                                                                                      | Алло-ТГСК от неродственного совместимого донора<br>Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from a matched unrelated donor | Симптоматическое<br>Symptomatic                                                                  |



стителная гемотрансфузионная и симптоматическая терапия. При наблюдении в динамике ко 2-му месяцу жизни у ребенка кроме тромбоцитопении стали нарастать лейкопения, нейтропения (ниже 100 клеток/мкл) и анемия (гемоглобин снизился до 77 г/л). Ввиду длительно сохраняющейся тромбоцитопении с прогрессией до панцитопении было принято решение о проведении диагностических костномозговых пункций (КМП). В миелограмме: пунктат со сниженной клеточностью, полиморфный по составу, содержит умеренное количество нейтрального жира и стромальных элементов; нейтрофильный росток сужен, с чертами диспоза (вакуолизация цитоплазмы); эритроидный росток сужен; мегакариоциты в редких полях зрения без «отшнуровки» тромбоцитов. К этому времени у мальчика диагностировали ряд сопутствующих заболеваний, таких как двусторонняя тугоухость I степени, врожденный порок сердца (надклапанный стеноз легочной артерии) и вторичный тубулоинтерстициальный нефрит. Проведены дополнительные обследования: тест с дизпоксиданом для исключения врожденной анемии Фанкони и исследование методом флуоресцентной гибридизации *in situ* делеции региона 22q11.2 для исключения синдрома Диджорджи, результаты отрицательные. Кровь ребенка направлена на молекулярно-генетическое исследование методом NGS с использованием таргетной кастомной панели «Костномозговая недостаточность». В период проведения обследования у пациента сохранялась панцитопения с минимальными значениями гемоглобина (до 64 г/л), тромбоцитов (до  $4 \times 10^9/\text{л}$ ) и нейтрофилов (0 клеток/мкл). Ответа на введение гранулоцитарного колониестимулирующего фактора не отмечалось, сохранялась трансфузионная зависимость (от эритроцитной массы 1 раз в 2 нед, тромбоконцентрата 1 раз в 3 дня). На фоне длительного агранулоцитоза у пациента развился парапроктит с высеvom из раневого отделяемого *Pseudomonas aeruginosa*, который разрешился на фоне комбинированной антибактериальной терапии, заместительной терапии внутривенным иммуноглобулином (ВВИГ) и местной терапии. По результатам генетического исследования в 7-м экзоне гена *MECOM* обнаружена делеция 1 нуклеотида в гетерозиготном состоянии – с.985delA, приводящая к сдвигу рамки считывания и образованию преждевременного стоп-кодона р.(Ser329Valfs\*13). Данный вариант отсутствует в базах данных аллельных вариантов человека и не описан в научной литературе. Также было выполнено генетическое обследование обоих родителей – патогенных вариантов в гене *MECOM* не обнаружено, таким образом, сделан вывод, что данная мутация возникла у ребенка *de novo*. По совокупности данных вариант был классифицирован

как патогенный. Мальчику установлен диагноз «АТ с развитием панцитопении, гетерозиготная мутация с.985delA/p.(Ser329Valfs\*13) в гене *MECOM*». В возрасте 10 месяцев ребенок госпитализирован в РДКБ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, где продолжил получать комплексное лечение в связи с прогрессией септических осложнений на фоне панцитопении и развитием полиорганной недостаточности. В период относительной стабилизации состояния по жизненным показаниям были проведены 2 повторные гаплоидентичные ТГСК от матери, однако приживления трансплантата не зафиксировано. Пациент умер от множественных осложнений основного заболевания и ТГСК.

### Клинический случай №2

Мальчик, 3 года. Родился в срок, с нормальными весоростовыми показателями. На первые сутки жизни в гемограмме выявлены тромбоцитопения (тромбоциты  $7 \times 10^9/\text{л}$ ) и анемия. Кровоизлияний на коже и кровоточивости из пупочной ранки не было. По данным нейросонографии диагностировано внутрижелудочковое кровоизлияние. С диагнозами «неонатальная тромбоцитопения» и «анемия средней степени тяжести» ребенок госпитализирован в гематологический стационар, где проведено лечение ВВИГ с положительным эффектом (тромбоциты  $100 \times 10^9/\text{л}$ ). В течение последующих 3 лет отмечались колебания числа тромбоцитов от  $60 \times 10^9/\text{л}$  до  $160 \times 10^9/\text{л}$ . В возрасте 3 лет появились жалобы на ежедневные обильные носовые кровотечения. При обследовании обращали на себя внимание снижение количества тромбоцитов до  $43 \times 10^9/\text{л}$  и уровня сывороточных иммуноглобулинов: IgA до 0,29 г/л, IgG до 5,93 г/л. Проведено молекулярно-генетическое исследование для исключения синдрома Вискотта–Олдрича, патогенные варианты в гене *WAS* не выявлены. В дальнейшем стала нарастать бледность кожных покровов, в гемограмме появились признаки билинейной цитопении (гемоглобин до 40 г/л, тромбоциты  $20 \times 10^9/\text{л}$ , лейкоциты  $8,42 \times 10^9/\text{л}$ ). Пациент госпитализирован в стационар по месту жительства, были проведены КМП, данных за онкогематологическую патологию не получено. Проводилась заместительная терапия компонентами крови. Для дообследования и определения дальнейшей тактики лечения ребенок госпитализирован в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. При поступлении жалобы на слабость, бледность, геморрагическую сыпь и периодические носовые кровотечения. При осмотре на коже лица, живота, нижних конечностей отмечался полиморфный геморрагический синдром. Со стороны костно-мышечной системы выявлено нарушение пронации–супинации

обоих предплечий и деформация V пальцев (клинодактилия) обеих кистей (рисунк 3). При сборе семейного анамнеза выяснено, что у мамы пациента отмечается склонность к образованию экхимозов после легких ушибов, эпизоды обильных носовых кровотечений, во время беременности отмечалось снижение количества тромбоцитов. Дедушка по материнской линии наблюдается гематологом с диагнозом «неуточненная тромбоцитопения». Также у матери, дяди и дедушки по материнской линии имеются изменения в виде деформации мизинцев и ограничения движений (пронация–супинация) рук (рисунк 4).

При лабораторном обследовании: лейкоциты  $3,11 \times 10^9/\text{л}$ , нейтрофилы 250 кл/мкл, гемоглобин 94 г/л, минимальное число тромбоцитов  $10 \times 10^9/\text{л}$ . Миелограмма: пунктаты обеднены миелокариоцитами, нейтрофильный росток сужен, с умеренными чертами диспоза (гипосегментация нейтрофилов), содержание лимфоцитов увеличено, моноцитарный росток относительно расширен, эритроидный росток в точке 1 сужен, в точке 2 относительно сохранен, в точке 3 относительно расширен, эритропоэз нормобластический с чертами диспоза (тельца Жолли, кольца Кебота, базофильная пунктация, уродливость ядер), гемоглобинизация не нарушена, в точке 1 мегакариоциты не найдены, в точке 2 мегакариоцитарный росток сужен, в точке 3 сохранен (мегакариоциты без видимой «отшнуровки» тромбоцитов). Ввиду ограничения пронации–супинации предплечий пациенту выполнена рентгенография: на полученных рентгенограммах отмечается билатеральный РУС (рисунк 5). Учитывая данные анамнеза, предоставленных выписок, проведенных исследований был предположен диагноз «конгенитальная апластическая анемия с РУС». При проведении молекулярно-генетического исследования у пациента и его матери в акцепторном сайте сплайсинга 12-го экзона гена *MECOM* обнаружена однонуклеотидная замена в гетерозиготном состоянии – с.2286-2A>G. У отца данной замены не обнаружено. Пациенту проведена алло-ТГСК от 9/10 HLA-совместимого неродственного донора с TCR- $\alpha\beta$ /CD19-деплецией. Приживление тромбоцитарного ростка зафиксировано на +14-е сутки, лейкоцитарного – на +22-е сутки от ТГСК. Признаков течения острой реакции «трансплантат против хозяина» не было.

### Клинический случай №3

Девочка, 13 лет. Перинатальный период и наследственный анамнез без особенностей. Начало заболевания с 2 лет с появления изолированной тромбоцитопении (тромбоциты до  $22 \times 10^9/\text{л}$ ). По данным миелограммы костный мозг нормоклеточный, нарушена «отшнуровка» тромбоцитов. Диагностиро-

Рисунок 3

Верхние конечности пациента 2 и его матери

Figure 3

The upper limbs of patient 2 and his mother



Рисунок 4

Генеалогическое древо пациента 2

Figure 4

Family tree of patient 2

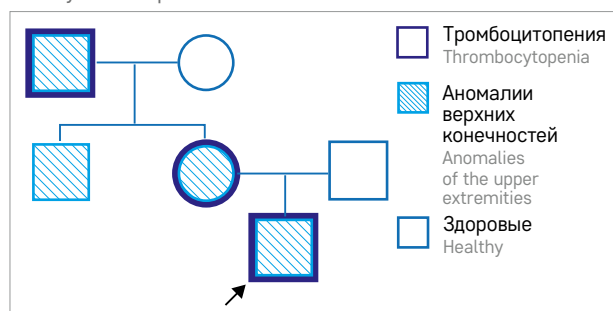


Рисунок 5

Рентгенограмма правого и левого предплечья пациента 2, синостоз лучевой и плечевой костей

Figure 5

X-rays of the right and left forearm of patient 2 showing radioulnar synostosis



вана иммунная тромбоцитопения. Проведена терапия ВВИГ с достижением полного тромбоцитарного ответа. В течение последующих 10 лет количество тромбоцитов составляло около  $100 \times 10^9/\text{л}$ , другие показатели гемограммы были в норме. В возрасте 12 лет признаки заболевания возобновились, вырос кожный геморрагический синдром, в гемограмме кроме снижения числа тромбоцитов до  $40 \times 10^9/\text{л}$  появилась макроцитарная анемия (гемоглобин 110 г/л, средний объем эритроцитов 112 фл), лейкоциты  $4 \times 10^9/\text{л}$ , лейкоцитарная формула без изменений. Терапия: 2 курса ВВИГ без достижения тромбоцитарного ответа. Учитывая длительный анамнез заболевания, присоединение анемии, отсутствие ответа на ВВИГ, проведено повторное обследование в целях дифференциальной диагностики между иммунной тромбоцитопенией, миелодиспластическим синдромом, дефицитными состояниями и синдромами костномозговой недостаточности. В 3 последовательно выполненных миелограммах и при трепанобиопсии выявлены признаки 3-ростковой гипоплазии кроветворения. При кариотипировании обнаружен нормальный кариотип без хромосомных перестроек. У пациентки исключена анемия Фанкони (тест с диэпоксидом отрицательный). Клон пароксизмальной ночной гемоглобинурии не обнаружен. Исключены инфекционная и аутоиммунная этиология процесса (вирусологический скрининг, маркеры антифосфолипидного синдрома, ревматоидный фактор, проба Кумбса, фракции иммуноглобулинов – в норме). Исключены  $B_{12}$ -дефицитная анемия и тромбоцитопатия. Кровь пациентки направили для проведения молекулярно-генетического исследования методом NGS с использованием таргетных кастомных панелей «Тромбоцитопении/тромбоцитопатии» и «Костномозговая недостаточность». Примерно в этот же период времени девочка пожаловалась на боль в области предплечий, при осмотре впервые обратили внимание на нарушение пронации и супинации в обоих предплечьях, а на рентгенограмме – билатеральный РУС (рисунки 6). По результатам NGS выявлена мутация в гене *MECOM*, представляющая собой гетерозиготную миссенс-мутацию с.2243T>C, приводящую к замене аминокислоты p.(Leu748Pro). Данный вариант оценивается как «вероятно патогенный». Родители пациентки не обследованы. По совокупности клинико-лабораторных признаков установлен диагноз «врожденная костномозговая недостаточность, *MECOM*-АС». В динамике показатели гемограммы вновь самостоятельно восстановились (лейкоциты  $4,8 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобин 131 г/л, тромбоциты  $169 \times 10^9/\text{л}$ ), но периодически беспокоят носовые кровотечения и слабость. Пациентка получает симптоматическую терапию по месту жительства.

Рисунок 6

Рентгенограмма предплечий, синостоз лучевой и плечевой костей в 2 проекциях

Figure 6

X-rays of the right and left forearm of patient 3 showing radioulnar synostosis (AP and lateral views)



## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

ВТ – группа редких генетически детерминированных заболеваний, которые наряду с инфекциями, иммунными нарушениями, приобретенными злокачественными и незлокачественными заболеваниями системы крови необходимо включать в круг дифференциально-диагностического поиска причин снижения числа тромбоцитов у детей разных возрастов [5–9]. Выявление детей с ВТ среди всей когорты пациентов с тромбоцитопенией во многих случаях оказывается длительным и трудоемким процессом. Прежде всего генетическую причину тромбоцитопении следует предполагать в случаяхотягощенного семейного анамнеза, выявления тромбоцитопении с рождения, если невозможно установить факт наличия нормального числа тромбоцитов до момента заболевания или проследить четкую связь с каким-либо триггером, вызывающим снижение числа тромбоцитов, а также когда тромбоцитопения является необъяснимым проявлением предполагаемого приобретенного заболевания и не корректируется на фоне проводимой специфической терапии [26]. В последние десятилетия наши знания в области биологии врожденных заболеваний, в том числе ВТ, значительно улучшились, идентифицировано несколько новых генов, ответственных за развитие редких форм ВТ, подробнее описаны их клинические характеристики. Тщательный сбор семейного анамнеза, анамнеза заболевания ребенка, внимательный физикальный осмотр и оценка лабораторных данных позволяют охарактеризовать фенотип пациента и предположить вероятную форму ВТ. Для точной вери-

фикации формы ВТ необходимо проведение молекулярно-генетического тестирования.

Согласно современным классификациям [5, 6], 4 формы ВТ – АТ с мутациями в гене *MPL*, 2 подтипа АТ с РУС (мутации в *HOXA11* и *MECOM*) и врожденная АТ с биаллельной мутацией *THPO* – часто относятся как к группе ВТ с предрасположенностью к прогрессии до панцитопении, так и к врожденным синдромам костномозговой недостаточности, или врожденным апластическим анемиям (ВАА). Действительно, эти 4 формы ВТ имеют сходные гематологические проявления с заболеваниями из группы ВАА: часто манифестируют с изолированной цитопенией и постепенно прогрессируют в тяжелую костномозговую недостаточность. Кроме того, клиническая картина некоторых форм ВТ и ВАА может быть более комплексной и разнообразной, чем только гематологические изменения. При ряде нозологий гематологические проявления ассоциируются с аномалиями развития костей скелета, пороками развития различных органов и другими негематологическими особенностями. Наиболее хорошо известно такое заболевание как врожденная анемия Фанкони, при которой пациенты имеют характерные черты лица, часто – врожденные аномалии костей скелета, в том числе верхних конечностей, мальформации внутренних органов, пигментацию кожи, патологию эндокринной системы, органов зрения, слуха и др. Гематологические проявления могут презентировать с односторонней цитопенией, а костномозговая недостаточность, как правило, проявляется позднее. Для врожденной анемии Даймонда–Блекфена помимо тяжелой арегенераторной анемии характерны низкий рост пациентов, аномалии развития верхних конечностей, твердого неба, сердца и мочеполовых путей. Синдромальная форма ВТ – тромбоцитопения с отсутствием лучевой кости (ТАР-синдром), как правило, уже с рождения определяется визуально, при этой форме ВТ также описаны другие органые мальформации, однако характерно постепенное самостоятельное восстановление числа тромбоцитов в течение первых лет жизни. АТ без костных аномалий и ряд заболеваний, относящихся к первичным иммунодефицитным состояниям – синдром Вискотта–Олдрича, Х-сцепленная врожденная тромбоцитопения, синдром Диджорджи (пациенты с этим синдромом также имеют особенности фенотипа), могут манифестировать у детей с тромбоцитопенией, в связи с чем их также включают в круг дифференциальной диагностики ВТ. Редким и менее знакомым заболеванием является РУСАТ.

В настоящей статье представлены клинические случаи пациентов с подтипом РУСАТ2, или *MECOM*-АС, для которого классически описано сочетание врожденной костной аномалии (РУС) с тромбоцитопе-

нией, склонной к прогрессии до костномозговой недостаточности. Аналогично с описанными в литературе случаями, клиническая картина заболевания у представленных в статье пациентов отличалась значительной гетерогенностью. В семье пациента 2 были родственники (мать, бабушка и дядя) с аналогичными костными аномалиями и гематологическими проявлениями, что могло помочь более ранней диагностике заболевания у ребенка, но выраженность этих проявлений у взрослых членов семьи была более легкой, они не обследовались и не получали специфическую терапию. В 2 других случаях сбор семейного анамнеза не выявил родственников с похожими клиническими проявлениями. Возраст обнаружения тромбоцитопении у 3 пациентов сильно варьировал и составил от 1 дня до 2 лет, а панцитопения постепенно прогрессировала к возрасту от 2 месяцев до 12 лет. Тяжесть тромбоцитопении также варьировала, самому маленькому ребенку (пациент 1) уже с рождения потребовались регулярные заместительные трансфузии тромбоконцентрата; у пациента 2 тяжелая тромбоцитопения, выявленная с рождения, имела тенденцию к временному улучшению, и он не нуждался в терапии в течение 3 лет; у пациентки 3 тромбоцитопения носит флюктуирующий характер с периодами ухудшения и улучшения. Тяжесть геморрагических проявлений у всех пациентов в целом коррелировала с тромбоцитопенией, однако у пациентки 3 кровоточивость периодически возникает при удовлетворительном числе тромбоцитов. Исследование аспирата костного мозга проводилось всем пациентам: пациенту 1 КМП была выполнена в возрасте 2 месяцев, уже после развития панцитопении, и выявила сужение 3 ростков кроветворения; пациенту 2 КМП также проведена в связи с развитием выраженной 3-ростковой цитопении в периферической крови, но результаты миелограммы сильно различались по 3 точкам (от картины 3-ростковой аплазии кроветворения с признаками диспоэза до практически нормально представленных ростков кроветворения с изолированным нарушением «отшнуровки» тромбоцитов); у пациентки 3 результат первой КМП не противоречил диагнозу «иммунная тромбоцитопения», а повторные миелограммы, исследованные через 10 лет в связи с развитием панцитопении, соответствовали 3-ростковой гипоплазии кроветворения. Типичными проявлениями РУС по результатам рентгенографии верхних конечностей были выявлены у пациентов 2 и 3, в обоих случаях костные аномалии были обнаружены спустя некоторое время после начала обследования по поводу цитопении. У пациента 1 по данным рентгенографии РУС не описан, однако он имел другие множественные аномалии развития.



В клиническом случае №2 заболевание имело практически классический фенотип РУСАТ: тромбоцитопения у мальчика впервые была выявлена при рождении и с возрастом прогрессировала до панцитопении вследствие костномозговой недостаточности. Присутствовала типичная клинико-рентгенологическая картина РУСАТ, аналогичные гематологические и негематологические признаки имелись у родственников. В 2 других случаях клиническая картина заболевания не была такой очевидной. Несмотря на то, что у пациента 1 (самого маленького) тяжелая трансфузионнозависимая тромбоцитопения и органные мальформации, выявленные при рождении, однозначно указывали на врожденную причину заболевания, спектр предполагаемых нозологий был шире: предполагались как синдромы врожденной костномозговой недостаточности, так и первичные иммунодефицитные состояния. У пациентки 3 тромбоцитопения впервые диагностирована только в возрасте 2 лет, была непостоянной и только через 10 лет прогрессировала до панцитопении, которая также носила вариабельный характер. В дифференциально-диагностический поиск причин заболевания этой пациентки включался широкий спектр как приобретенных, так и врожденных заболеваний. Практически одновременное выявление РУСАТ и получение результата молекулярно-генетического исследования позволили установить пациентке точный диагноз.

Во всех случаях пациентам было проведено молекулярно-генетическое исследование методом NGS с использованием кастомной таргетной панели генов «Костномозговая недостаточность», включающей 197 генов, в том числе *MECOM* и *HOXA11*, и выявлены патогенные/вероятно патогенные варианты в гене *MECOM* (таблица 2). Ранее считалось, что патогномичным признаком *MECOM*-АС является проксимальный РУСАТ [19, 21, 22]. Однако по результатам различных исследований выяснилось, что многие из пациентов с генетически верифицированными вариантами *MECOM* не имеют РУСАТ [2, 23]. *MECOM* специфично экспрессируется в формирующихся зачатках конечностей во время эмбриогенеза. В течение короткого периода эмбрионального развития лучевая и локтевая кости имеют общий перихондрий, и нарушение процесса сегментации под влиянием генетических или тератогенных факторов может привести к более или менее выраженному синостозу [27]. Ряд исследований демонстрирует, что патогенными являются миссенс-мутации в *MECOM*, имеющие эффект приобретения/изменения функции (gain-of-function), либо мутации с частичной потерей функции (partial loss-of-function) [19]. Выделен критический регион локализации мутаций при РУСАТ – это участок мотивов 8–9-го цинковых пальцев в С-концевом фрагменте белка. При этом мутации при других скелетных

аномалиях, таких как гипоплазия средних фаланг мизинцев, дисплазия тазобедренных суставов (также описанные при РУСАТ1 и РУСАТ2), могут быть связаны с локализацией вне этих мотивов, но также в С-концевом фрагменте белка [16, 19, 22].

На примере наших пациентов прослеживаются вышеописанные гено-фенотипические корреляции. У пациента 1 мутация локализована в 7-м экзоне (NM\_001105078.4), который кодирует 6–7-й цинковые пальцы, именно у него не было РУСАТ. В то же время у пациентов 2 и 3 есть РУСАТ, а мутации локализованы соответственно в акцепторном сайте сплайсинга 12-го экзона (кодирует 9–10-й цинковые пальцы) и 11-го экзона (кодирует 8-й цинковый палец) (рисунок 7).

Сенсоневральная глухота описана у пациентов как с РУСАТ1, так и с РУСАТ2 [16, 19, 21]. Механизм ее развития до конца неизвестен, однако есть данные о выявлении дисплазии костей среднего уха у пациента с мутацией в *MECOM*, возможно, это может играть роль в патогенезе глухоты [21].

По данным литературы, для пациентов с *MECOM*-АС и тяжелой костномозговой недостаточностью единственным радикальным методом терапии является ТГСК от совместимого донора. В среднем в 75% случаев проведение ТГСК имело благоприятный исход. В наших случаях 2 пациентам в связи с развитием костномозговой недостаточности также были выполнены ТГСК (от гаплоидентичного и неродственного доноров). В результате терапии самый маленький пациент умер от множественных осложнений; у второго – успешно прижился трансплантат, осложнений в ранний посттрансплантационный период не было.

Литературные данные и собственные клинические наблюдения свидетельствуют о значительной гетерогенности фенотипов у пациентов с патогенными мутациями в гене *MECOM*, при этом не удается выявить какой-либо клинический признак, который бы встретился у всех больных. На наш взгляд, предложение называть заболевание *MECOM*-АС [2] является рациональным, поскольку этот термин включает в себя не только классический фенотип с АТ и РУСАТ, но и другие различные органные мальформации (аномалии конечностей, пороки сердца и почек, нарушение слуха и др.) с их вариабельной пенетрантностью.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время метод NGS, позволяющий одновременно исследовать широкий спектр генов, сокращает время и повышает эффективность дифференциально-диагностического поиска. Своевременное выявление детей с конкретными формами



### Рисунок 7

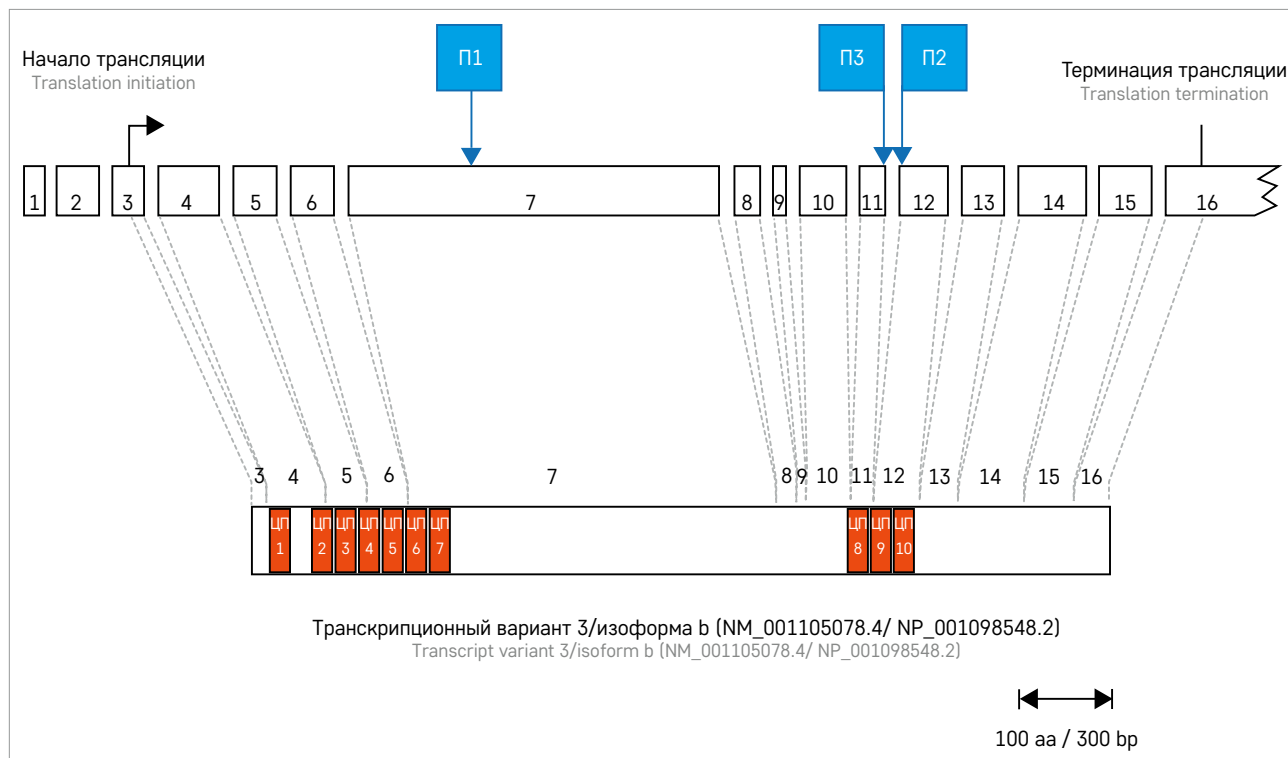
#### Локализация мутаций в гене *MECOM* у пациентов 1–3

На рисунке (адаптирован из [2]) схематично представлены экзоны гена *MECOM* (NM\_001105078.4), мотивы цинковых пальцев соответствующего белка (NP\_001098548.2) и локализация мутаций у пациентов, представленных в описываемых клинических случаях. ЦП – цинковый палец; П1 – пациент 1; П2 – пациент 2; П3 – пациент 3

### Figure 7

#### The localization of mutations in the *MECOM* gene in patients 1–3

The figure (adapted from [2]) shows the exons of the *MECOM* gene (NM\_001105078.4), the zinc finger motifs of the corresponding protein (NP\_001098548.2), and the localization of mutations in the patients. ЦП – zinc finger; П1 – patient 1; П2 – patient 2; П3 – patient 3



ВТ способствует определению прогноза течения заболевания и, соответственно, адекватному выбору дальнейшей тактики ведения пациента: от динамического наблюдения до проведения куративной терапии, в том числе ТГСК, а также медико-генетическому консультированию семьи. Однако, несмотря на современные достижения в молекулярной биологии, почти в половине случаев у пациентов с признаками ВТ пока не удается установить генетическую причину заболевания [6], что в клинической практике значительно затрудняет определение необходимого объема и интенсивности их терапии.

### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

### БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы выражают благодарность врачам детского онкогематологического отделения ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер».

### ORCID

Gurzhikhanova M.Kh. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0411-9485>

Shestopalov G.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2410-2867>

Vasilyeva M.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9335-5286>

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

Antonova K.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6603-5749>

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

Kotskaya N.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2787-6005>

Radygina S.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7696-1153>

Donyush E.K. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4252-8829>

Fink O.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1336-9379>

Pristanskova E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4569-657X>

Skorobogatova E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4431-1444>

Pavlova A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3974-5662>

Kurnikova M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0900-6874>

Suntsova E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8404-1800>

## Литература

- Loganathan A., Munirathnam D., Ravikumar T. A novel mutation in the *MECOM* gene causing radioulnar synostosis with amegakaryocytic thrombocytopenia (RUSAT-2) in an infant. *Pediatr Blood Cancer* 2019; 66 (4): e27574.
- Germeshausen M., Ancliff P., Estrada J., Metzler M., Ponstingl E., Rütschle H., et al. *MECOM*-associated syndrome: a heterogeneous inherited bone marrow failure syndrome with amegakaryocytic thrombocytopenia. *Blood Adv* 2018; 2 (6): 586–96.
- Noris P., Pecci A. Hereditary thrombocytopenias: a growing list of disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2017; 2017 (1): 385–99.
- Noris P., Klersy C., Gresele P., Giona F., Giordano P., Minuz P., et al. Platelet size for distinguishing between inherited thrombocytopenias and immune thrombocytopenia: a multicentric, real life study. *Br J Haematol* 2013; 162 (1): 112–9.
- Pecci A., Balduini C.L. Inherited thrombocytopenias: an updated guide for clinicians. *Blood Rev* 2021; 48: 100784.
- Almazni I., Stapley R., Morgan N.V. Inherited Thrombocytopenia: Update on Genes and Genetic Variants Which may be Associated With Bleeding. *Front Cardiovasc Med* 2019; 6: 80.
- Balduini C.L., Melazzini F., Pecci A. Inherited thrombocytopenias-recent advances in clinical and molecular aspects. *Platelets* 2017; 28 (1): 3–13.
- Greinacher A., Eekels J.J.M. Diagnosis of hereditary platelet disorders in the era of next-generation sequencing: “primum non nocere”. *J Thromb Haemost* 2019; 17 (3): 551–4.
- Bury L., Falcinelli E., Gresele P. Learning the Ropes of Platelet Count Regulation: Inherited Thrombocytopenias. *J Clin Med* 2021; 10 (3): 533.
- Walne A., Tummala H., Ellison A., Cardoso S., Sidhu J., Sciuccati G., et al. Expanding the phenotypic and genetic spectrum of radioulnar synostosis associated hematological disease. *Haematologica* 2018; 103 (7): e284–7.
- Thompson A.A., Nguyen L.T. Amegakaryocytic thrombocytopenia and radio-ulnar synostosis are associated with *HOXA11* mutation. *Nat Genet* 2000; 26 (4): 397–8.
- Magli M.C., Largman C., Lawrence H.J. Effects of *HOX* homeobox genes in blood cell differentiation. *J Cell Physiol* 1997; 173 (2): 168–77.
- Thorsteinsdottir U., Sauvageau G., Hough M.R., Dragowska W., Lansdorp P.M., Lawrence H.J., et al. Overexpression of *HOXA10* in murine hematopoietic cells perturbs both myeloid and lymphoid differentiation and leads to acute myeloid leukemia. *Mol Cell Biol* 1997; 17 (1): 495–505.
- Magnusson M., Brun A.C., Miyake N., Larsson J., Ehinger M., Bjornsson J.M., et al. *HOXA10* is a critical regulator for hematopoietic stem cells and erythroid/megakaryocyte development. *Blood* 2007; 109 (9): 3687–96.
- Goyama S., Yamamoto G., Shimabe M., Sato T., Ichikawa M., Ogawa S., et al. *Evi-1* is a critical regulator for hematopoietic stem cells and transformed leukemic cells. *Cell Stem Cell* 2008; 3 (2): 207–20.
- Thompson A.A., Woodruff K., Feig S.A., Nguyen L.T., Schanen N.C. Congenital thrombocytopenia and radio-ulnar synostosis: a new familial syndrome. *Br J Haematol* 2001; 113 (4): 866–70.
- Castillo-Caro P., Dhanraj S., Haut P., Robertson K., Dror Y., Sharathkumar A.A. Proximal radio-ulnar synostosis with bone marrow failure syndrome in an infant without a *HOXA11* mutation. *J Pediatr Hematol Oncol* 2010; 32 (6): 479–85.
- Maicas M., Vázquez I., Alis R., Marcotegui N., Urquiza L., Cortés-Lavaud X., et al. The *MDS* and *EVI1* complex locus (*MECOM*) isoforms regulate their own transcription and have different roles in the transformation of hematopoietic stem and progenitor cells. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech* 2017; 1860 (6): 721–9.
- Niihori T., Ouchi-Uchiyama M., Sasahara Y., Kaneko T., Hashii Y., Irie M., et al. Mutations in *MECOM*, Encoding Oncoprotein *EVI1*, Cause Radioulnar Synostosis with Amegakaryocytic Thrombocytopenia. *Am J Hum Genet* 2015; 97 (6): 848–54.
- Tang Z., Tang G., Hu S., Patel K.P., Yin C.C., Wang W., et al. Deciphering the complexities of *MECOM* rearrangement-driven chromosomal aberrations. *Cancer Genet* 2019; 233–234: 21–31.
- Ripperger T., Hofmann W., Koch J.C., Shirmeshan K., Haase D., Wulf G., et al. *MDS1* and *EVI1* complex locus (*MECOM*): a novel candidate gene for hereditary hematological malignancies. *Haematologica* 2018; 103 (2): e55–8.
- Lord S.V., Jimenez J.E., Kroeger Z.A., Patrick C.S., Sanchez-Pena I., Ziga E., et al. A *MECOM* variant in an African American child with radioulnar synostosis and thrombocytopenia. *Clin Dysmorphol* 2018; 27 (1): 9–11.
- Bluteau O., Sebert M., Leblanc T., Peffault de Latour R., Quentin S., Lainey E., et al. A landscape of germ line mutations in a cohort of inherited bone marrow failure patients. *Blood* 2018; 131 (7): 717–32.
- Tsang H.C., Bussel J.B., Mathew S., Liu Y.C., Imahiyerobo A.A., Orazi A., Geyer J.T. Bone marrow morphology and disease progression in congenital thrombocytopenia: a detailed clinicopathologic and genetic study of eight cases. *Mod Pathol* 2017; 30 (4): 486–98.
- Pei X., Han J. Efficacy and feasibility of proximal radioulnar derotational osteotomy and internal fixation for the treatment of congenital radioulnar synostosis. *J Orthop Surg Res.* 2019; 14 (1): 81.
- Pecci A. Diagnosis and treatment of inherited thrombocytopenias. *Clin Genet* 2016; 89 (2): 141–53.
- Simmons B.P., Southmayd W.W., Riseborough E.J. Congenital radioulnar synostosis. *J Hand Surg Am* 1983; 8 (6): 829–38.

DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-77-83

# Редкий вариант нестабильного гемоглобина Hakkari в России: описание случая и обзор литературы

С.Г. Манн, М.В. Красильникова, Н.А. Карамян, М.Е. Лохматова, А.О. Копосова, Е.А. Литвин, С.А. Плясунова

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

Нами описан единственный в России случай нестабильного гемоглобина Hakkari у двухлетнего русского мальчика с тяжелой трансфузионнозависимой анемией, возникшей в результате точечной *de novo* мутации гена  $\beta$ -глобина [ $\beta 31(B13)Leu \rightarrow Arg$ , *HBB*: c.95T>G]. Сочетание клинической картины тяжелой трансфузионнозависимой анемии, протекающей по типу большой формы  $\beta$ -талассемии, с отсутствием лабораторных признаков, характерных для данного заболевания, и наличием некоторых индивидуальных особенностей показателей крови затруднило диагностический поиск, который был завершён только благодаря современным молекулярно-генетическим методам. Проведенное сравнение всех известных случаев аномального нестабильного гемоглобина Hakkari позволяет выявить совпадения и различия клинико-лабораторного течения заболевания. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

**Ключевые слова:** аномальные гемоглобины, нестабильный гемоглобин, гемоглобин Hakkari, тельца Гейнца

Манн С.Г. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022; 21 (3): 77–83.  
DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-77-83

## Rare unstable hemoglobin Hakkari in Russia: a case report and literature review

S.G. Mann, M.V. Krasilnikova, N.A. Karamjan, M.E. Lokhmatova, A.O. Kuposova, E.A. Litvin, S.A. Plyasunova

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

Here we report the first case of unstable hemoglobin Hakkari identified in Russia to our knowledge. It was diagnosed in a two-year-old Russian boy with severe transfusion-dependent anemia caused by a *de novo* mutation in the  $\beta$ -globin gene [ $\beta 31(B13)Leu \rightarrow Arg$ , *HBB*: c.95T>G]. Routine diagnostic methods were not effective, and his diagnosis was not established until gene sequencing of the globin gene was performed. A comparative analysis of all known cases of unstable Hb Hakkari allows for the identification of similarities and differences in the clinical and laboratory course of the disease. The patient's parents gave their consent to the use of their child's data, including photographs, for research purposes and in publications.

**Key words:** abnormal hemoglobins, unstable hemoglobin, hemoglobin Hakkari, Heinz bodies

Mann S.G., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (3): 77–83.  
DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-77-83

Гемолитические анемии, обусловленные наличием структурно-аномальных гемоглобинов, – сравнительно редкая патология, вызванная изменениями аминокислотной последовательности в цепях глобина, влияющими на свойства молекулы гемоглобина, такие как стабильность, растворимость и сродство к кислороду [1]. Проявления данной патологии варьируются от клинически бессимптомных до тяжелых состояний [2].

В настоящее время описано 947 дефектов в  $\beta$ -глобиновой цепи, из них 118 приводят к образованию нестабильных гемоглобинов (НГ) [3]. Наследственные гемолитические анемии, связанные с аномальным НГ, вызваны мутациями глобиновых генов, в результате которых одна аминокислота заменяется другой, что приводит к изменению структуры

молекулы гемоглобина, нарушая ее стабильность. Такие варианты являются неустойчивыми к факторам внешней среды, подвергаются быстрой денатурации с последующей преципитацией и образованием телец Гейнца [4]. Тельца Гейнца взаимодействуют со структурами мембраны эритроцитов, вызывая их гемолиз [4]. Сверхнестабильные варианты характеризуются разрушением цепей глобина в клетках-предшественниках эритроцитов [5, 6]. Каждый НГ обладает определенным диапазоном стабильности, некоторые из них достаточно нестабильны, чтобы вызвать гемолитическую анемию в гетерозиготном состоянии [7]. НГ обычно наследуются как аутосомно-доминантные нарушения [8, 9] и часто являются результатом *de novo* мутаций [8]. Клиническая картина пациентов с такими вариантами и обстоятельства, при которых

© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России  
Поступила 21.03.2022  
Принята к печати 22.04.2022

### Контактная информация:

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

© 2022 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 21.03.2022

Accepted 22.04.2022

### Correspondence:

Svetlana G. Mann, a researcher at the Laboratory of Molecular Biology, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation  
Address: 1 Samory Mashela St., 117997, Moscow, Russia  
E-mail: 9035974212@mail.ru

они были обнаружены, значительно различаются [10], причем клинические проявления разных случаев одного и того же аномального гемоглобина также могут отличаться.

Примером может служить редкий сверхнестабильный гемоглобин Hakkari (Hb Hakkari), в большинстве случаев клинически проявляющийся трансфузионнозависимой анемией. Впервые данный гемоглобин был описан у турецкой девочки в 1995 г. [11]. В дальнейшем было выявлено еще 2 случая заболевания [12, 13]. На территории России Hb Hakkari ранее не встречался.

Замена тимиона на гуанин в положении 95 β-глобиновой цепи приводит к замене лейцина на аргинин в положении 31 (с.95T>G(p.Leu31Arg)) [3, 11], что изменяет структуру субъединиц глобина в основном в местах присоединения гема с образованием очень неустойчивой связи, последующей быстрой потерей гема молекулой гемоглобина и ее денатурацией. В результате происходит разрушение поздних предшественников эритроцитов в костном мозге с развитием неэффективного эритропоэза и тяжелой анемии, требующей регулярных гемотрансфузий [11–13].

Диагностика гемоглобинопатий в рутинной практике включает подсчет эритроцитов, эритроцитарных индексов, проведение электрофореза гемоглобинов и/или высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [2], тем не менее эти методы не всегда могут быть эффективными при диагностике некоторых вариантов НГ [6]. Это затрудняет своевременную постановку диагноза, а процесс поиска генетической причины заболевания может затянуться на годы. Использование метода высокопроизводительного секвенирования (NGS) может быть полезным дополнением в диагностике данных патологий.

Приводим описание клинического случая впервые выявленного носительства аномального Hb Hakkari на территории России у этнически русского ребенка, возникшего в результате спонтанной мутации. Родители

пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

## КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациент А., 2 года 6 месяцев, впервые снижение гемоглобина до 69 г/л было выявлено в возрасте 6 месяцев, эритроциты составляли  $2,58 \times 10^{12}/л$ , основные эритроцитарные индексы, ретикулоциты и другие показатели гемограммы соответствовали возрастной норме (таблица 1). Несмотря на наличие умеренной гепатоспленомегалии, общий билирубин и его фракции не были повышены, так же как и другие биохимические показатели функции печени. Была проведена первая трансфузия эритроцитарной взвеси, после которой размеры печени и селезенки уменьшились до нормы.

При проведении дифференциальной диагностики анемии по месту жительства были исключены железодефицитное состояние, дефициты фолиевой кислоты и витамина B<sub>12</sub>, болезнь Гоше, внутриутробные инфекции и вирусные гепатиты. Для исключения парциальной красноклеточной аплазии была проведена пункция костного мозга. В миелограмме отмечалось расширение эритроидного ростка без нарушения созревания эритроцитов. Суправитальное окрашивание костного мозга метиловым фиолетовым не проводилось.

Дальнейшее обследование ребенка проводилось в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В гемограмме от 19.06.2020 (возраст 1 год 3 месяца) через 24 дня после трансфузии: лейкоциты  $9,61 \times 10^9/л$ , эритроциты  $3,43 \times 10^{12}/л$ , гемоглобин 93 г/л, средний объем эритроцита (MCV) 81 фл, среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH) 27,1 пг, средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC) 335 г/л, тромбоциты  $243 \times 10^9/л$ , нейтрофилы 34,9%, лимфоциты 54,5%,

Таблица 1

Динамика показателей красной крови ребенка (исследования проводились перед трансфузиями эритроцитарной взвеси)

Table 1

Changes in the child's red blood parameters (tests were carried out prior to the red blood cell suspension transfusion)

| Дата (возраст)<br>Date (age)                                    | Гемоглобин, г/л<br>Hemoglobin, g/L | Эритроциты,<br>$\times 10^{12}/л$<br>RBCs, $\times 10^{12}/L$ | MCV,<br>фл<br>MCV,<br>fL | MCH,<br>пг<br>MCH,<br>pg | MCHC,<br>г/л<br>MCHC,<br>g/L | RDW, % | Ретикулоциты,<br>%<br>Reticulocytes,<br>% | NRBC, $\times 100$<br>лейкоцитов<br>NRBC, $\times 100$<br>WBC |
|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|--------|-------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 09.09.2019 (6 месяцев)<br>09.09.2019 (6 months)                 | 69                                 | 2,58                                                          | 81                       | 26                       | —                            | —      | 0,4                                       | —                                                             |
| 11.03.2020 (1 год)<br>11.03.2020 (1 year)                       | 72                                 | 2,71                                                          | 76                       | 26,6                     | 350                          | —      | 0,7                                       | —                                                             |
| 19.06.2020 (1 год 3 месяца)<br>19.06.2020 (1 year and 3 months) | 93                                 | 3,43                                                          | 81                       | 27,1                     | 335                          | —      | 0,65                                      | —                                                             |
| 03.03.2021 (2 года)<br>03.03.2021 (2 years)                     | 97                                 | 3,43                                                          | 75,8                     | 28,3                     | 373                          | —      | 0,1                                       | —                                                             |
| 01.09.2021 (2 года 6 месяцев)<br>01.09.2021 (2 year 6 months)   | 95                                 | 4,12                                                          | 70,1                     | 23,1                     | 329                          | 18,9   | 0,19                                      | 0,2                                                           |

Примечание. NRBC – ядросодержащие эритроциты.  
Note. NRBC – nucleated red blood cells.

моноциты 8%, эозинофилы 2%, базофилы 0,6%, ретикулоциты 0,65% (таблица 1).

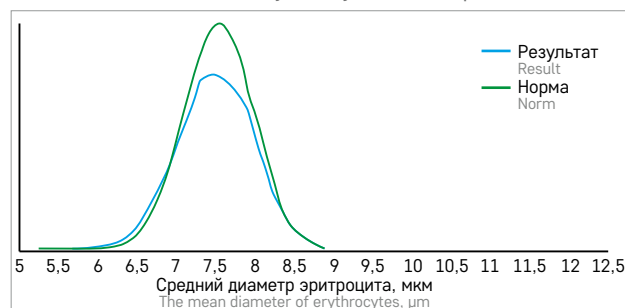
Для морфологического исследования эритроцитов периферической крови использовался комплекс автоматизированной микроскопии с функцией телемедицины для гематологических, цитологических, гистологических исследований МЕКОС-Ц2 (ЗАО «Медицинские компьютерные системы (МЕКОС)», Россия). По данным эритроцитометрии средний диаметр эритроцитов составлял 7,5 мкм, коэффициент овалоцитоза – 0,87, индекс сфероцитоза – 4,1, пойкилоцитоз – 18%, анизоцитоз – 7%, была выявлена полихроматофилия в единичных эритроцитах. На рисунке 1 представлена полученная

**Рисунок 1**

Средний диаметр эритроцитов пациента А

**Figure 1**

The mean diameter of erythrocytes of the patient A



при исследовании крови пациента кривая Прайс-Джонса.

Электрофорез гемоглобинов был проведен с помощью капиллярного электрофореза на полностью автоматизированной системе нового поколения Capillarys Neonat Fast (SEBIA, Франция) с использованием набора реагентов Sebia Capillarys Hemoglobin и показал незначительное повышение фракции HbF (до 7,2%) и нормальное значение HbA<sub>2</sub> (2,7%).

Для дальнейшей идентификации аномального гемоглобина проведено исследование глобиновых цепей методом ВЭЖХ (УФ-хроматограф Waters ACQUITY UPLC H-Class system, США), которое также не выявило патологии.

В лаборатории молекулярной биологии Центра им. Дмитрия Рогачева было проведено молекулярно-генетическое исследование методом NGS с использованием кастомных панелей генов «Гемолитические анемии» (93 гена: *ABCB7, ABCG8, ADA, ADAMTS13, AK1, ALDOA, AMN, ANK1, ATP11C, BPGM, C15ORF41, C3, C3AR1, CASP10, CD46, CDAN1, CFB, CFH, CFI, CUBN, CYB5R3, DGKE, DHFR, EPB41, EPB42, FAS, FASLG, G6PD, GATA1, GCLC, GLRX5, GPI, GPX1, GSR, GSS, GYPA, GYPC, HBA1, HBA2, HBB, HBD, HBG1, HBG2, HFE, HK1, HMOX1, HSPA9, KCNN4, KIF23, KLF1, MTR, MTPP, NT5C3A, PFKM, PFKP, PGK1, PIEZO1, PIGA, PIGT, PKLR, PUS1, RHAG, SC5D, SEC23B, SLC11A2*

*SLC19A2, SLC25A38, SLC2A1, SLC40A1, SLC46A1, SLC4A1, SPTA1, SPTB, SRD5A3, TCN2, TF, TFR2, THBD, TMPRSS6, TPI1, UGT1A1, VPS13A, XK, YARS2, EGLN1, EPO, EPOR, EPAS1, HAMP, HJV, UROS, UROD, ALAD*) и «Костномозговая недостаточность» (197 генов: *ABCD4, ACD, AK2, ALAS2, ANKRD26, AP3B1, ASXL1, ATM, ATR, ATRX, BCOR, BCORL1, BLM, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, C15ORF41, CA2, CALR, CBL, CBLB, CBLIF, CDAN1, CDKN2A, CEBPA, CLCN7, COG6, COQ2, CSF3R, CTC1, CXCR4, DDX41, DKC1, DNAJC21, DNMT3A, EFL1, ELANE, ERCC4, ERCC6L2, ETV6, EXOC3L2, EZH2, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FAS, FLT3, G6PC3, GAR1, GATA1, GATA2, GF11, GLA, GNAS, HAX1, HOXA11, HRAS, IDH1, IDH2, IFNGR2, IKZF1, IVD, JAGN1, JAK2, JAK3, KDM6A, KIT, KLF1, KRAS, LIG4, LMBRD1, LRP5, LYST, LZTR1, MAGT1, MAP2K1, MAP2K2, MARS, MECOM, MLH1, MMAA, MMAB, MMACHC, MMADHC, MMUT, MPIG6B, MPL, MTRR, MYD88, MYH9, MYSM1, NAF1, NBN, NF1, NHP2, NOP10, NPM1, NRAS, OSTM1, PALB2, PARN, PCCA, PCCB, PDGFRA, PLEKHM1, POT1, PRDX1, PRF1, PTEN, PTPN11, RAB27A, RAD21, RAD51, RAD51C, RAF1, RASA2, RBM8A, RIT1, RMRP, RPL10A, RPL11, RPL15, RPL18, RPL19, RPL26, RPL27, RPL3, RPL31, RPL34, RPL35, RPL35A, RPL36, RPL4, RPL5, RPL9, RPLP0, RPS10, RPS15, RPS15A, RPS17, RPS19, RPS24, RPS26, RPS27, RPS27A, RPS28, RPS29, RPS7, RRAS, RTEL1, RUNX1, SAMD9, SAMD9L, SBDS, SBF2, SEC23B, SETBP1, SF3B1, SH2D1A, SH2B3, SLC46A1, SLX4, SMARCA1, SNX10, SOS1, SRP72, SRSF2, STAG2, TCIRG1, TERC, TERT, TET2, TFR2, TGFB1, TINF2, TNFRSF11A, TP53, TSR2, U2AF1, UBE2T, USB1, VPS13B, VPS33A, VPS45, WAS, WRAP53, WT1, XRCC2, ZRSR2*). Названия генов даны по HUGO Gene Nomenclature Committee. Пробоподготовку проводили с помощью методики гибридационного селективного обогащения с использованием кастомной панели зондов производства Roche согласно протоколу производителя по проведению реакции обогащения с библиотекой зондов SeqCap EZ для секвенаторов Illumina. Анализ ДНК проведен на платформе NextSeq Illumina методом парно-концевого чтения (120 × 2) со средней глубиной прочтения 147× (медианное 138×) и покрытием целевого региона 99% при глубине прочтения не менее 20×. Полученные данные были обработаны с помощью автоматизированного алгоритма, который включает выравнивание данных на референсную последовательность генома человека (hg38), выявление генетических вариантов и их фильтрацию по качеству, а также аннотацию по транскриптам каждого гена из базы RefSeq. Затем проводилась оценка популяционных частот выявленных вариантов, используя данные международного проекта gnomAD Exomes (ExAC) и базы gnomAD Genomes. Для оценки клинической значи-



мости выявленных вариантов использованы база данных Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), Human Gene Mutation Database (HGMD), Leiden Open Variation Database (LOVD), Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC), специализированная база данных Database of Human Hemoglobin Variants and Thalassemia mutations (HbVar), а также литературные данные (PubMed). Заключение о клинической значимости найденных вариантов давалось с учетом рекомендаций American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), HGMD, Российского руководства по интерпретации данных NGS и анализа литературы.

В результате во 2-м экзоне гена *HBB* обнаружена замена одного нуклеотида с.95T>G в гетерозиготном состоянии, приводящая к замене аминокислоты р.(Leu32Arg). Данная замена не встречается в базах данных аллельных вариантов человека и описана в научной медицинской литературе как патогенная, приводящая к формированию аномального Hb Hakkarı. Также методом секвенирования по Сэнгеру мутация подтверждена у пациента и не обнаружена ни у одного из родителей, что свидетельствует о возникновении мутации *de novo* (рисунок 2). Также были обнаружены 2 редких генетических варианта: гетерозиготная дупликация с.455dupA (rs774170058) в гене *FANCC* и гетерозиготная замена, приводящая к возникновению преждевременного стоп-кодона с.3853C>T в гене *FANCI* (rs121918164). Оба варианта были описаны в научной медицинской литературе у пациентов с анемией Фанкони как патогенные, в компаунд-гетерозиготном состоянии с другими вариантами в генах группы комплементации С и комплементации I соответственно. Однако при исследовании биоматериала родителей пациента было установлено, что оба варианта унаследованы от клинически здорового отца, что свидетельствует об их гетерозиготном носительстве.

После завершения обследования в связи с повышением ферритина до 1273 нг/мл была назначена хелаторная терапия деферазироксом в терапевтических дозах.

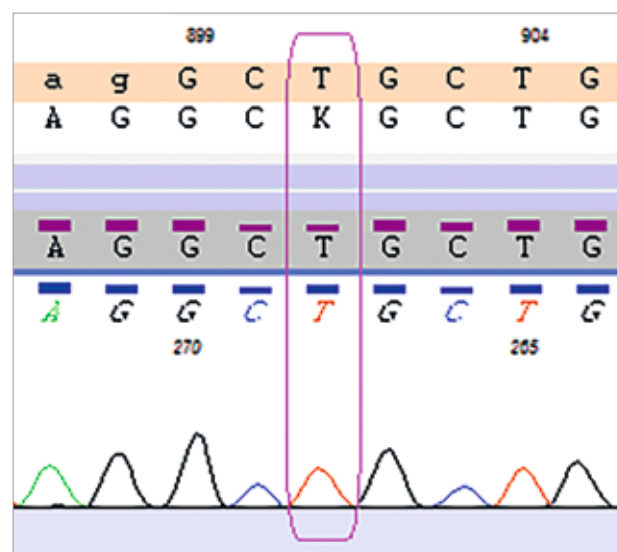
При повторном обследовании ребенка в Центре им. Дмитрия Рогачева 01.09.2021 (возраст 2 года 6 месяцев) в гемограмме: лейкоциты  $5,45 \times 10^9/\text{л}$ , эритроциты  $4,12 \times 10^{12}/\text{л}$ , гемоглобин 95 г/л, MCV 70,1 фл, MCH 23,1 пг, MCHC 329 г/л, тромбоциты  $280 \times 10^9/\text{л}$ , индекс распределения эритроцитов (RDW) 18,9%, нейтрофилы 25%, лимфоциты 63,9%, моноциты 8,1%, эозинофилы 2,2%, базофилы 0,6%, ретикулоциты 0,19%, абсолютное количество ретикулоцитов  $0,0078 \times 10^9/\text{л}$ , нормобласты  $0,2 \times 100$  лейкоцитов (таблица 1). Ферритин сыворотки от 01.09.2021 составлял 971 мкг/л, растворимые рецепторы трансферрина – 4,5 мг/л.

Рисунок 2

Результат секвенирования по Сэнгеру. Вариант с.95T>G подтвержден у пациента и не обнаружен ни у одного из родителей

Figure 2

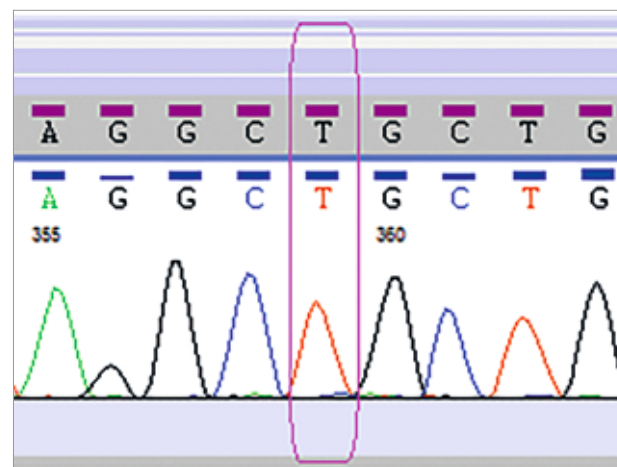
Sanger sequencing result. The c.95T>G variant was confirmed in the patient and was not found in the parents



Мать  
Mother



Пациент А.  
Patient A.



Отец  
Father

Клиническое состояние пациента характеризуется отсутствием костных деформаций, специфичных для манифестных форм талассемии. При описании

клинических осмотров отмечалось периодическое умеренное увеличение печени и селезенки, одно-временное либо изолированное, подтвержденное ультразвуковыми исследованиями. Данный признак проявлялся в основном перед трансфузиями и исчезал после их проведения. При осмотрах в нашем Центре гепатоспленомегалия не выявлялась.

Нами были проанализированы данные гемограмм за весь период наблюдения. До августа 2020 г. по лабораторным данным сохранялась нормохромная, нормоцитарная анемия, далее отмечалось периодическое снижение MCV (до 75,8–76 фл) и MCH (до 21,9–25,8 пг). Минимальные показатели были зафиксированы при обследовании ребенка в нашем Центре: MCV до 70,1–70,6 фл и MCH до 23,1–23,7 пг (таблица 1). При этом количество ретикулоцитов было в пределах нормы либо несколько сниженным, что не соответствовало низким значениям гемоглобина и колебалось от 0,1 до 0,7% (однократно составляло 1,2%). В единичных исследованиях было зафиксировано наличие нормобластов (0,2–3,0 на 100 лейкоцитов). В окрашенных мазках периферической крови тельца Гейнца не были выявлены, окраска мазков костного мозга не проводилась.

Основные биохимические показатели оставались нормальными за весь период наблюдения за исключением концентрации общего билирубина, который впервые повысился до 23,8 мкмоль/л в январе 2020 г. (в основном за счет непрямой фракции). В дальнейшем средняя концентрация общего билирубина составляла 32,78 мкмоль/л, непрямого билирубина – 25,47 мкмоль/л, прямого билирубина – 7,2 мкмоль/л.

До 2 лет жизни ребенка трансфузии проводились нерегулярно, с периодическими удлинением интервалов между ними до 1,5–2,0 мес, что сопровождалось снижением гемоглобина до 59–63 г/л. Затем проведение заместительной терапии стало более регулярным, с интервалом в 3–4 нед. Всего к 2,5 годам жизни было проведено 17 гемотрансфузий в объемах, соответствующих весу ребенка.

Нами были проанализированы особенности течения и гематологические показатели крови всех известных случаев носительства аномального Hb Nakkarı (таблица 2).

До описанного нами случая в мире было выявлено всего 3 пациента с сверхнестабильным аномальным Hb Nakkarı. Дебют заболевания наблюдался в возрасте от 6 месяцев до 5 лет. У всех пациентов имела место трансфузионнозависимая гемолитическая анемия средней или тяжелой степени, возникшая в результате мутации *de novo*. Во всех описанных ранее случаях в мазке периферической крови не были обнаружены тельца Гейнца, однако в костном мозге присутствовала гиперплазия эритроидного ростка с многочисленными

включениями в эритроблестах. Также ни в одном из описанных случаев Hb Nakkarı не был обнаружен с помощью рутинных методов, ВЭЖХ и капиллярного электрофореза гемоглобинов, однако все ранее описанные пациенты имели повышенный фетальный гемоглобин (от 23,1 до 34%). У нашего пациента максимальное значение гемоглобина не превышало 7,2%. Тест на нестабильность у всех детей был отрицательным [11–13], у нашего пациента не проводился.

Обращает на себя внимание наличие в ряде случаев более легкого течения заболевания по типу промежуточной формы, достоверного объяснения этим фактам получить не удалось. Во всех случаях, кроме первого описания Hb Nakkarı, проводилось исследование генов  $\alpha$ -глобина. Все исследования показали отсутствие делеций в генах  $\alpha$ -глобина, что позволяет предположить наличие дополнительных, пока не определенных генетических факторов, определяющих тяжесть анемии у пациентов с Hb Nakkarı.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые выявленный в России случай сверхнестабильного Hb Nakkarı у этнически русского ребенка протекал с тяжелой трансфузионнозависимой анемией, схожей с доминантной талассемией, характеризовался ранним дебютом заболевания, отсутствием результатов от проведения рутинного диагностического поиска, в том числе включавшего электрофорез гемоглобинов и исследование цепей глобина – ВЭЖХ, тельца Гейнца в периферической крови также не определялись. Изменения в генах  $\beta$ -глобина у родителей мальчика не были выявлены, что позволило определить характер мутации как *de novo*. Все перечисленные выше характеристики течения заболевания совпадали с описанными ранее случаями. Основным отличием нашего ребенка стал невысокий уровень фетального гемоглобина, в то время как у остальных пациентов он составлял 23,1–34%. Возможно, это было обусловлено выполнением неоднократных гемотрансфузий, подавляющих неэффективный эритропоэз, на момент проведения первичного изучения цепей глобина.

Применение современных молекулярно-генетических методов исследования, в нашем случае – NGS ДНК с использованием кастомной панели «Гемолитические анемии», во всех описанных случаях позволило завершить диагностический поиск. Все диагнозы были подтверждены в крупных гематологических центрах, оснащенных современным оборудованием.

Удлинение сроков окончательной постановки диагноза может быть обусловлено отсутствием настороженности к возможному наличию у пациентов

Таблица 2

Сравнение всех описанных ранее случаев носительства Hb Hakkari (начало)

Table 2

Comparative analysis of all previously described Hb Hakkari cases (beginning)

| Авторы, год публикации<br>Authors, year of publication | HbA <sub>2</sub> , % | HbF, % | ВЭЖХ, %<br>HPLC, %                                                                                                | Проба на нестабильность<br>Test for hemoglobin instability                                                     | Возраст начала трансфузий<br>Age at the start of blood transfusions | Клинические проявления<br>Clinical manifestations                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|--------------------------------------------------------|----------------------|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A. Gürgey, et al., 1995 [11]                           | 2,4                  | 32,7   | AγT – 9,2<br>Gγ – 44,0<br>AγI – 46,8                                                                              |                                                                                                                | 2 года<br>2 years                                                   | Гепатоспленомегалия<br>Периодическое снижение гемоглобина до 45–40 г/л<br>Периодическая потребность в гемотрансфузиях (2 эпизода на момент диагностики заболевания)<br>Hepatosplenomegaly<br>Occasional decrease in Hb level up to 45–40 g/L<br>Occasional need for blood transfusions (2 episodes by the time of diagnosis)                                                                                                                        |
| B. Kanathezhath, et al., 2010 [12]                     | 1,2                  | 23,1   |                                                                                                                   |                                                                                                                | 10 месяцев<br>10 months                                             | Непостоянная гепатоспленомегалия<br>Потребность в регулярных гемотрансфузиях (каждые 4 нед)<br>Transient hepatosplenomegaly<br>Need for regular blood transfusions (every 4 weeks)                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| S. Nair, et al., 2014 [13]                             | 2,0                  | 34     | Соотношения γ цепей не представлены (HbF – 32,4%)<br>The ratio of γ chains was not reported (HbF level was 32.4%) | Положительный результат после инкубации крови с окислителем<br>Positive after blood incubation with an oxidant | –                                                                   | Спленомегалия<br>Деформация костей черепа<br>Периодическое снижение гемоглобина до 70–80 г/л<br>Гемотрансфузии не проводились<br>Гипербилирубинемия, общий билирубин до 5,1 мг/дл, прямой билирубин до 0,3 мг/дл<br>Spleno-megaly<br>Deformation of skull bones<br>Occasional decrease in Hb level up to 70–80 g/L<br>No blood transfusion was carried out<br>Hyperbilirubinemia, total bilirubin up to 5.1 mg/dL, direct bilirubin up to 0.3 mg/dL |
| Результаты нашего исследования<br>Our study results    | 2,3                  | 7,2    | Gγ – 1,39<br>Aγ – 1,01                                                                                            | Не проводилась<br>No test was carried out                                                                      | 6 месяцев<br>6 months                                               | Непостоянная гепатоспленомегалия<br>Потребность в регулярных гемотрансфузиях (каждые 3–4 нед)<br>Непостоянная гипербилирубинемия, общий билирубин до 6,18 мг/дл, прямой билирубин до 1,09 мг/дл<br>Transient hepatosplenomegaly<br>Need for regular blood transfusions (every 3–4 weeks)<br>Hyperbilirubinemia, total bilirubin up to 6.18 mg/dL, direct bilirubin up to 1.09 mg/dL                                                                 |

Таблица 2

Сравнение всех описанных ранее случаев носительства Hb Hakkari (окончание)

Table 2

Comparative analysis of all previously described Hb Hakkari cases (end)

| Авторы, год публикации<br>Authors, year of publication | Национальность пациента<br>Nationality a patient | Пол<br>Sex        | Возраст дебюта заболевания<br>Age at the disease onset | Возраст на момент постановки диагноза<br>Age at the diagnosis | Гемоглобин, г/л<br>Hemo-globin, g/L | Эритроциты, × 10 <sup>12</sup> /л<br>RBCs, × 10 <sup>12</sup> /L | MCV, фл<br>MCV, fL | MCH, пг<br>MCH, pg | Ретикулоциты, %<br>Reticulo-cytes, % | Ретикулоциты, × 10 <sup>12</sup> /л<br>Reticulo-cytes, × 10 <sup>12</sup> /L | NRBC, × 100 лейкоцитов<br>NRBC, × 100 WBC | Тельца Гейнца<br>Heinz bodies                                                                                                                                                                          |
|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------|--------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A. Gürgey, et al., 1995 [11]                           | Турок<br>Turkish                                 | Женский<br>Female | 2 года<br>2 years                                      | 5 лет<br>5 years                                              | 37                                  | 1,33                                                             | 96,2               | 27,8               | 6,0                                  |                                                                              | –                                         | Отсутствуют в эритроцитах<br>Выявлены в эритроблестах<br>Absent in erythrocytes<br>Detected in erythroblasts                                                                                           |
| B. Kanathezhath, et al., 2010 [12]                     | Гватемалец<br>Guatemalan                         | Мужской<br>Male   | 10 месяцев<br>10 months                                | 10 месяцев<br>10 months                                       | 64                                  |                                                                  | 79                 | 26                 | 1,9                                  | 0,047                                                                        | 0,92                                      | Отсутствуют в эритроцитах<br>Выявлены в эритроблестах<br>Absent in erythrocytes<br>Detected in erythroblasts                                                                                           |
| S. Nair, et al., 2014 [13]                             | Пуэрториканец<br>Puerto Rican                    | Женский<br>Female | 5 лет<br>5 years                                       |                                                               | 98                                  |                                                                  | 90,5               | 29,8               | 1,9                                  | –                                                                            | –                                         | Отсутствуют в эритроцитах<br>В эритроблестах выявлены базофильные внутрицитоплазматические включения<br>Absent in erythrocytes<br>Basophilic intraplas-matic inclusions were detected in erythroblasts |
| Результаты нашего исследования<br>Our study results    | Русский<br>Russian                               | Мужской<br>Male   | 6 месяцев<br>6 months                                  | 1 год 3 месяца<br>1 year and 3 months                         | 69                                  | 2,58                                                             | 81                 | 26                 | 0,4                                  |                                                                              | –                                         | Отсутствуют в эритроцитах<br>Absent in erythrocytes                                                                                                                                                    |

НГ, так же как и ограниченными возможностями более раннего проведения молекулярно-генетических исследований у диагностически сложных пациентов. В связи с этим нельзя исключить более широкое распространение Hb Hakkari в различных популяциях мира.

Таким образом, только проведение молекулярно-генетического исследования на завершающих стадиях обследования больных дает возможность выявления данной патологии.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

#### ORCID

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

**Krasilnikova M.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0929-4792>

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

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

**Koposova A.O.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5606-4335>

**Litvin E.A.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6331-5339>

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

## Литература

1. Lichtman M.A., Kaushansky K., Prchal J.T., Levi M.M., Burns L.J., Armitage J.O. Williams Manual of Hematology, 9e. Chapter 17: Hemoglobinopathies Associated with Unstable Hemoglobin. 2011.
2. Kohne E. Hemoglobinopathies: clinical manifestations, diagnosis, and treatment. Dtsch Arztebl Int 2011; 108 (31–32): 532–40.
3. [Электронный ресурс] URL: <https://globin.bx.psu.edu/cgi-bin/hbvar/counter>. Дата обращения 15.08.2022.
4. Румянцев А.Г. Гемоглобинопатии и талассемические синдромы. Под ред. Румянцева А.Г., Токарева Ю.Н., Сметаниной Н.С. М.: Изд-во «Практическая медицина»; 2015. С. 111–112.
5. Ohba Y. Unstable Hemoglobins. Hemoglobin 1990; 14: 353–88.
6. Zur B. Hemoglobin variants – pathomechanism, symptoms and diagnosis. J Lab Med 2015; 1–11.
7. Carrell R.W., Winterbourn C.C. The unstable hemoglobins. Tex Rep Biol Med 1980; 40: 431–45.
8. Hematology: Basic principles and practice. Hoffman R., Benz E.J., Shattil S.J., Furie B., Cohen H.J., Silberstein L.E., McGlave P. (eds.). 4th ed. 2005. 2821 p.
9. Zur B. Hemoglobin variants – pathomechanism, symptoms and diagnosis. J Lab Med 2015. DOI 10.1515/labmed-2015-0106
10. Milner P.F., Wrightstone R.N. The unstable hemoglobins: a review. Prog Clin Biol Res 1981; 51: 197–222.
11. Gurgey A., Altay C., Gu L.-H., Leonova J.Ye., Delibalta A., Öner C., et al. Hb Hakkari or  $\alpha_2\beta_2\gamma_1(B13)$  LEU→ARG, a severely unstable hemoglobin variant associated with numerous intra-erythroblastic inclusions and erythroid hyperplasia of the bone marrow. Hemoglobin 1995; 19 (3–4): 165–72.
12. Kanathezath B., Hazard F.K., Guo H., Kidd J., Azimi M., Kuypers F.A., et al. Hemoglobin Hakkari: an autosomal dominant form of beta thalassemia with inclusion bodies arising from *de novo* mutation in exon 2 of beta globin gene. Pediatr Blood Cancer 2010; 54 (2): 332–5.
13. Nair S., Eldjerou L.K., Harris N.S., Dunbar L.N. Rare form of autosomal dominant thalassemia – Hemoglobin Hakkari. Pediatr Blood Cancer 2014; 61: 2118–20.

© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России  
Поступила 30.05.2022  
Принята к печати 27.06.2022

DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-84-89

# Саркома с альтерациями гена *BCOR* (*BCOR-ITD*) с изолированным поражением L3-позвонка у мальчика 8 лет

И.В. Сидоров<sup>1</sup>, А.С. Федорова<sup>2</sup>, Н.П. Макарова<sup>1</sup>, Е.И. Коноплева<sup>1</sup>, А.С. Шарлай<sup>1</sup>, А.В. Панферова<sup>1</sup>, А.Е. Друй<sup>1</sup>, Д.М. Коновалов<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва

## Контактная информация:

Сидоров Илья Владимирович,  
врач-патологоанатом  
патологоанатомического отделения  
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России  
Адрес: 117997, Москва,  
ул. Саморы Машела, 1  
E-mail: ilya93sidorov@gmail.com

В классификации Всемирной организации здравоохранения 2020 г. впервые были формализованы три новые группы опухолей, выделенные первоначально из группы недифференцированных круглоклеточных сарком, так называемые юингоподобные саркомы, а именно саркома с альтерациями гена *BCOR*, саркома с перестройкой гена *CIC* и саркомы с перестройкой гена *EWSR1* с нетипичными (не принадлежащими к семейству *ETS*) генами-партнерами. В данном обзоре речь пойдет о саркоме с альтерациями гена *BCOR*, которая будет проиллюстрирована одним нашим клиническим наблюдением, характеризующимся относительно типичными признаками в отношении как морфологической картины и иммунофенотипа, так и биологического поведения и ответа опухоли на терапию. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

**Ключевые слова:** *BCOR*, саркома с альтерациями гена *BCOR*, юингоподобные саркомы, недифференцированная круглоклеточная саркома

Сидоров И.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022; 21 (3): 84–89.  
DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-84-89

## Sarcoma with *BCOR* gene alterations (*BCOR-ITD*) of the L3 vertebra in an 8-year-old boy

I.V. Sidorov<sup>1</sup>, A.S. Fedorova<sup>2</sup>, N.P. Makarova<sup>1</sup>, E.I. Konopleva<sup>1</sup>, A.S. Sharlai<sup>1</sup>, A.V. Panferova<sup>1</sup>, A.E. Druiy<sup>1</sup>, D.M. Kononov<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow

## Correspondence:

Ilya V. Sidorov,  
a pathologist at the Department of Anatomic  
Pathologic, Dmitry Rogachev National Medical  
Research Center of Pediatric Hematology,  
Oncology and Immunology, Ministry  
of Healthcare of the Russian Federation  
Address: 1 Samory Mashela St.,  
117997, Moscow, Russia  
E-mail: ilya93sidorov@gmail.com

In the 2020 World Health Organization classification, for the first time, three new groups of tumors were formalized, initially isolated from the group of undifferentiated round cell sarcomas, the so-called Ewing-like sarcomas, namely sarcoma with *BCOR* genetic alterations, *CIC*-rearranged sarcoma and sarcomas with *EWSR1* gene rearrangement with atypical (non-*ETS* family) partner genes. This review will focus on sarcoma with *BCOR* genetic alterations, which will be illustrated by one of our clinical case, characterized by relatively typical features, both in terms of morphological presentation and immunophenotype, and in terms of biological behavior and response to tumor therapy. The patient's parents gave their consent to the use of their child's data, including photographs, for research purposes and in publications.

**Key words:** *BCOR*, sarcoma with *BCOR* gene alterations, Ewing-like sarcomas, undifferentiated round cell sarcoma

Sidorov I.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (3): 84–89.  
DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-84-89

В 2020 г. в классификацию Всемирной организации здравоохранения были добавлены три новые группы опухолей, которые ранее характеризовались как юингоподобные и были выделены из группы недифференцированных круглоклеточных сарком. Одной из групп этих опухолей является саркома с альтерациями гена *BCOR*. Слово «альтерации» в названии опухоли обосновано крайней гетерогенностью изменений данного гена. Так, саркомы, относящиеся к этой группе, могут характеризоваться не только рекуррентными химерными онкогенами (к примеру, *BCOR-CCNB3*, *BCOR-MAML3*), но также и внутренней тандемной дупликацией в экзоне 15 гена *BCOR* (*BCOR-ITD*, от англ. internal tandem duplication),

перестройкой, приводящей к функциональной активации *BCOR* – *YWHAЕ-NUTM2В*.

В контексте обсуждения юингоподобных сарком нельзя не остановиться на данном термине. С научной точки зрения в свете новых данных, а также актуальной классификации Всемирной организации здравоохранения опухолей костей и мягких тканей термин не является верным и используется в настоящий момент, скорее, для удобства обозначения трех групп вышеупомянутых опухолей. На сегодняшний день получено достаточно данных о том, что опухоли крайне вариативны по своей морфологической картине, иммунофенотипу и клиническому поведению.



## КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Мальчик, 8 лет, в начале августа 2020 г. получил травму спины. После этого начал жаловаться на боли в спине, передней поверхности левого бедра. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Выполнена магнитно-резонансная томография (МРТ) без контрастного усиления: в L3-позвонке выявлено объемное образование, занимающее левую половину тела, дужку позвонка и суставные отростки слева, общими размерами 5,4 × 3,6 × 3,3 см. Образование распространяется в просвет позвоночного канала, оттесняет дуральный мешок и корешки конского хвоста вправо. Образование распространяется паравerteбрально (рисунок 1А).

Также выполнена компьютерная томография (КТ) без контраста: образование левой половины тела L3-позвонка с его патологическим переломом и признаками деструкции дужек, поперечного отростка L3 (рисунок 1Б).

Была проведена биопсия новообразования. При морфологическом исследовании наблюдался рост гетерогенной опухоли, которая состояла из клеток округлой и веретеновидной формы с инвазивным ростом в костную и мышечную ткань. Клетки имели среднее ядерно-цитоплазматическое соотношение, ядра с вакуолизированным хроматином. Цитоплазма без четких контуров, амфифильная. Отмечался выраженный ангиоцентризм неопластических клеток, фокально выявлялись небольшие зоны миксоматоза и некроза (рисунок 2А). На основании описанной морфологической картины был сформирован дифференциально-диагностический ряд: рабдомиосаркома, саркома Юинга с атипичной

морфологией, спектр юингоподобных сарком, синовиальная саркома, миоэпителиальная карцинома. Сформирована первоначальная панель антител: CD99, vimentin, Fli1, PanCK, EMA, Desmin, Myogenin, SMA, p63, NKX2.2, TLE1. Выявлена экспрессия CD99, TLE1, vimentin, реакции с остальными антителами были негативными, что иммунологически исключало рабдомиосаркому, саркому Юинга, миоэпителиальную карциному. Для окончательного исключения саркомы Юинга, синовиальной саркомы и миоэпителиальной карциномы было проведено цитогенетическое исследование (FISH), по данным которого не выявлено перестроек генов *EWSR1*, *SYT*, транслокаций *ERG/EWSR1* и *FLI1/EWSR*. В дальнейшем выполнен второй этап иммуногистохимического исследования с антителами против BCOR, ETV4, WT1, SATB2, реакции с SATB2, BCOR, WT1 (фокально) были позитивными. Таким образом, по результатам двух этапов иммуногистохимического исследования была выявлена коэкспрессия клетками опухоли CD99/BCOR/SATB2/TLE1/cyclin D1 (рисунок 3), что иммунологически при сопоставлении с морфологической картиной соответствовало саркоме с альтерациями гена *BCOR*. Материал был передан в лабораторию молекулярной онкологии, где методом полимеразной цепной реакции выявлена внутренняя tandemная дупликация в экзоне 15 гена *BCOR*.

Таким образом, на основании проведенного комплексного обследования ребенку установлен диагноз: саркома с альтерацией *BCOR* L3-позвонка T4aN0M0. Иницирована терапия в рамках протокола EuroEwing-2012. После проведения 9 предоперационных альтернирующих курсов химиотерапии опухоль сократилась на 60%. В рамках локального контроля выполнено радикальное удаление опухоли с резекцией и протезированием позвонка.

### Рисунок 1

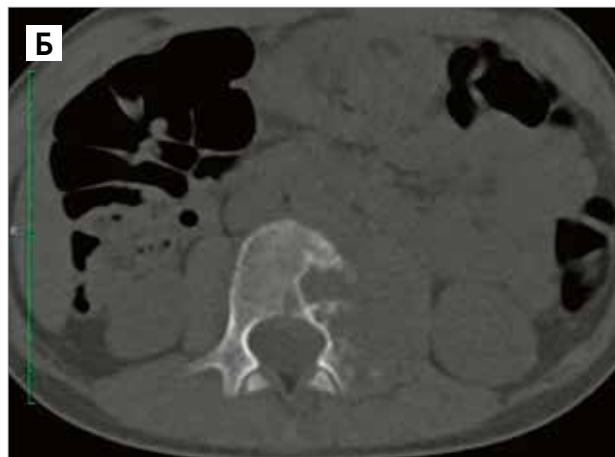
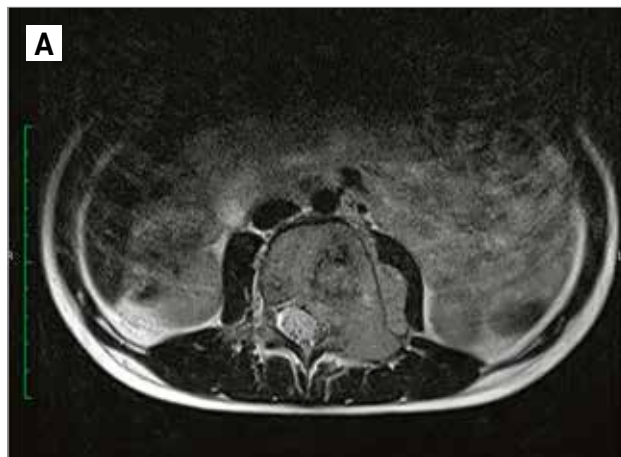
Визуализация инициальной опухоли

А – МРТ (T2) и Б – КТ-картина опухоли L3-позвонка (описание в тексте)

### Figure 1

Visualization of the initial tumor

A – MRI (T2) and B – CT of the tumor of the L3 (description in the text)



При гистологическом исследовании операционного материала после проведенной полихимиотерапии (ПХТ) был выявлен тотальный, терапевтически индуцированный некроз опухоли (рисунки 2Б).

В рамках адъювантного этапа лечения ребенку проведено 5 курсов ПХТ с параллельным выполне-

нием дистанционной лучевой терапии на область инициального распространения опухоли: разовая очаговая доза 1,8 Гр, суммарная очаговая доза 54 Гр. В настоящий момент, спустя 10 мес от окончания лечения, ребенок жив. На основании комплексного обследования подтверждена ремиссия по основному заболеванию.

#### Рисунок 2

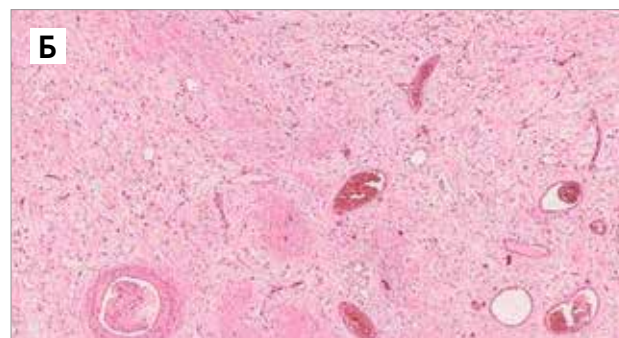
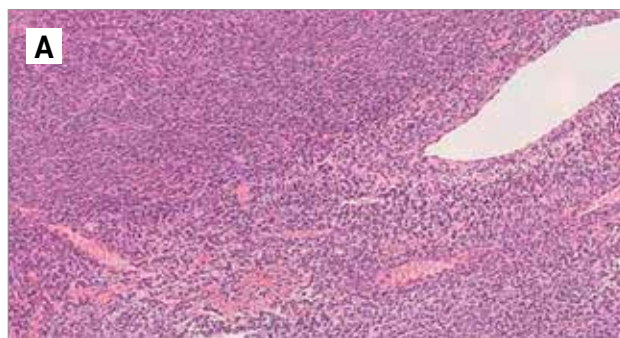
Морфологическая картина саркомы с *BCOR-ITD* до и после лечения

А – опухоль с выраженной гетерогенностью морфологической картины. В верхней части микрофотографии клетки среднего размера, веретеновидной формы, организованы в пучки. В нижней части микрофотографии клетки имеют более крупный размер, округлую или овоидную форму, располагаются солидно. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$ ; Б – зона предсуществующей опухоли после ПХТ: обширные зоны фиброза с инфильтрацией гистиоцитами и гемосидерофагами. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 40$

#### Figure 2

Morphology of *BCOR-ITD* sarcoma before and after treatment

А – the tumor with a pronounced heterogeneity. In the upper part of the micrograph, cells of medium size are spindle-shaped and organized into bundles. In the lower part of the micrograph, the cells have a larger size, rounded or ovoid shape and located solidly. Hematoxylin and eosin staining,  $\times 200$ ; Б – the zone of a pre-existing tumor after chemotherapy: extensive fibrosis zones with infiltration by histiocytes and hemosiderophages. Hematoxylin and eosin staining,  $\times 40$



#### Рисунок 3

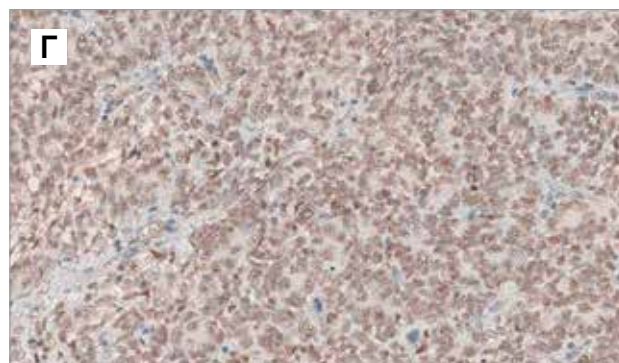
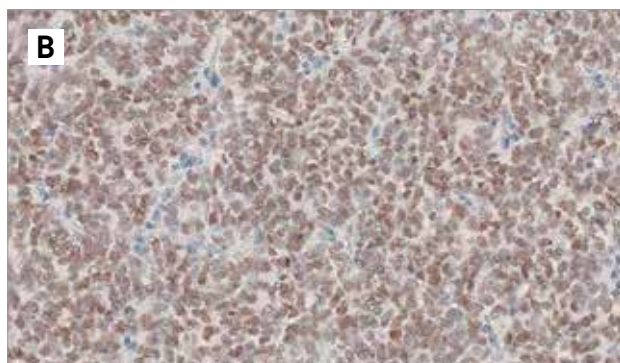
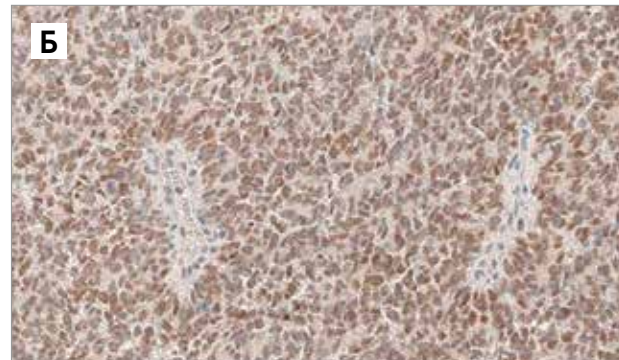
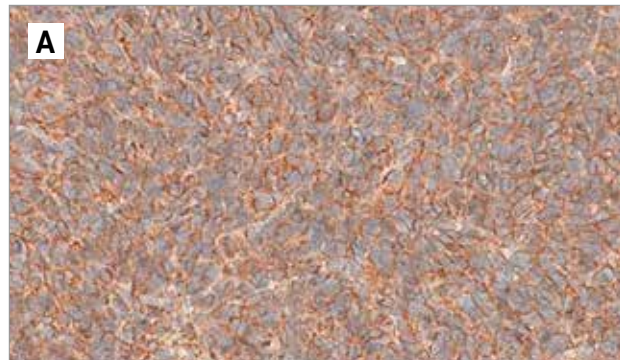
Иммунофенотип саркомы с *BCOR-ITD*. Иммуногистохимическое исследование,  $\times 40$

А – диффузная мембранная экспрессия CD99; Б – ядерная экспрессия BCOR; В – ядерная экспрессия SATB2; Г – ядерная экспрессия TLE1

#### Figure 3

Immunophenotype of *BCOR-ITD* sarcoma. Immunohistochemistry,  $\times 40$

А – diffuse membrane expression of CD99; Б – nuclear expression of BCOR; В – nuclear expression of SATB2; Г – nuclear expression of TLE1





## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Эпидемиология и локализация

Саркома с альтерациями гена *BCOR* встречается преимущественно у детей и подростков. Так, в случае опухолей, несущих самый распространенный вариант химерного гена (*BCOR-CCNB3*), средний возраст пациентов составляет 11,7 года [1], а новообразования, содержащие внутренние tandemные повторы гена (*BCOR-ITD*), встречаются у пациентов первого года жизни [2, 3]. Другие генетические варианты саркомы с перестройкой гена *BCOR* поражают пациентов из более разнообразных возрастных групп. Среди лиц мужского пола саркома с альтерациями гена *BCOR* встречается в 3–4 раза чаще [1]. Стоит отметить, что случаев саркомы с альтерациями гена *BCOR* на сегодняшний день описано всего несколько десятков [4].

Саркомы, содержащие химерные гены с участием *BCOR* (*BCOR-CCNB3* и др.), располагаются в костях в 1,5 раза чаще, чем в мягких тканях. Наиболее частыми вариантами скелетной локализации являются метафизы бедренной и большеберцовой костей, крестец [1, 5, 6]. В редких случаях опухоль может располагаться в области головы и шеи, а также во внутренних органах [6, 7]. Саркомы, несущие *BCOR-ITD*, обычно располагаются в мягких тканях туловища, головы и шеи, забрюшинном пространстве, но не в конечностях [3].

### Морфологическая картина

Саркомы с альтерациями гена *BCOR* включали в себя спектр опухолей, а именно *BCOR*-перестроенную саркому, инфантильную недифференцированную круглоклеточную саркому, примитивную миксоидную мезенхимальную опухоль младенцев. Эти опухоли на основании своего морфологического, иммунофенотипического и генетического сходства были объединены в одну группу.

Важно помнить, что по сравнению с саркомой Юинга почти все так называемые юнгоподобные саркомы – это опухоли с гетерогенной морфологией. Так, саркомы, несущие химерный ген *BCOR-CCNB3*, могут быть представлены округлыми, овоидными, веретеновидными или угловатыми клетками со скудной эозинофильной или светлой цитоплазмой. Ядра слегка атипичные, с неровными контурами, везикулярные или гиперхромные, с дисперсным хроматином. Могут встречаться хорошо заметные ядрышки. Митотическая активность варьирует, часто бывает высокой. Клетки могут быть организованы различным образом: пласты с высокой клеточностью, участки чередования высокой и низкой клеточности («мраморный» паттерн), пучки, тяжи,

гнезда, штормиформный, нодулярный, псевдоглангулярный, трабекулярный, микрокистозный паттерны. Миксоидная строма выражена в различной степени, иногда с формированием ретикулярного паттерна. Также возможна гиалинизация стромы. Наблюдается обильная васкуляризация, сосуды тонкостенные, угловатые, с расширенным просветом. Возможны обильные кровоизлияния в опухолевую ткань. Часто встречаются некрозы. Возможен локально инфильтративный рост [7–13]. Опухоли, несущие *BCOR-ITD*, представлены круглыми, овоидными либо короткими веретеновидными клетками со скудной светло-эозинофильной цитоплазмой и мономорфными округлыми ядрами с тонкодисперсным хроматином. Клетки организованы в гнезда, разделенные фиброзными тяжами. Могут отмечаться периваскулярные скопления опухолевых клеток и «мраморный» паттерн, выраженные миксоидные изменения стромы. Митотическая активность в ткани опухоли обычно высокая, могут встречаться «географические» некрозы.

### Иммуногистохимическая картина

В отличие от других опухолей из группы юнгоподобных в саркоме с альтерациями гена *BCOR* экспрессия CD99 встречается менее чем в 50% случаев и может быть выраженной или слабой, фокальной или диффузной. Опухоли, несущие химерный ген *BCOR-CCNB3*, демонстрируют выраженную диффузную ядерную экспрессию *CCNB3* [14], ядерную экспрессию *TLE1* и *BCOR*. Возможна экспрессия *EMA*, *WT1*, *CD117*, *bcl2*, *bcl-6*,  $\beta$ -*catenin*, *SATB2*, *Pax8*, *CD56*, *p63*, *synaptophysin*, *c-kit*, *cyclin D1*, *s100*, *NKX2.2* (что может приводить к трудностям дифференциальной диагностики с саркомой Юинга), а в саркомах, несущих химерные гены *BCOR-MAML3* и *BCOR-ZC3H7B*, также экспрессия *PanCK* и *desmin* [15]. В опухолях с *BCOR-ITD* отмечается экспрессия *BCOR*, *SATB2*, *cyclin D1*, *TLE1* [16]. По опыту диагностики саркомы Юинга и юнгоподобных сарком патологоанатомического отделения НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева ( $n = 790$ ) была выявлена проблема перекрестного иммунофенотипа. Так, например, в чуть менее одной трети случаев саркомы с альтерациями гена *BCOR*, которые были диагностированы в нашем отделении (4 случая из 14), выявлялась коэкспрессия CD99 и *NKX2.2* – диагностически важная комбинация для саркомы Юинга. В целом, по мнению авторов, наиболее ценным дифференциально-диагностическим признаком сарком с альтерациями гена *BCOR* является выявление коэкспрессии CD99, *BCOR*, *TLE1* и *SATB2*.

### Генетические особенности

Наиболее распространенной генетической перестройкой среди опухолей с альтерацией гена *BCOR*,

встречающейся в 60% случаев, является образование химерного гена *BCOR-CCNB3* вследствие парацентрической инверсии в X-хромосоме [17]. Также могут встречаться химерные гены *BCOR-MAML3*, *BCOR-ZC3H7B*, *BCOR-KMT2D*, *BCOR-CHD9* [5, 7, 17, 18]. Помимо образования химерных конструкций, патогенетическим и дифференциально-диагностическим маркером данного типа опухолей является внутренняя tandemная дупликация в экзоне 15 гена *BCOR*.

### Прогноз

Саркома с перестройкой гена *BCOR* по сравнению с саркомой Юинга характеризуется более индолентным течением. Несмотря на то, что у многих пациентов на момент постановки диагноза уже имеются метастазы, 5-летняя выживаемость составляет 72–80%. Отмечается хороший ответ на режимы ПХТ, применяемые в лечении саркомы Юинга [6, 7, 10], что и продемонстрировано в нашем клиническом наблюдении.

### Саркома с перестройкой гена *YWHAЕ*

Саркомы с перестройкой гена *YWHAЕ* очень редки и характеризуются образованием химерного гена *YWHAЕ-NUTM2B*. В результате экспрессии химерного онкопротеина возникает дисрегуляция экспрессионного профиля клетки, сходная с таковой при наличии активирующих аберраций в гене *BCOR* (перестройка или *ITD*). На основании экспрессионного сходства опухоли с химерным геном *YWHAЕ-NUTM2B* относятся к группе сарком с альтерацией гена *BCOR*. Изменения транскриптома клетки сводятся к активации сигнальных путей MAPK и Hippo, независимо друг от друга приводящими к гиперэкспрессии циклина D [19].

Известно, что часть эндометриальных стромальных сарком характеризуется данной перестройкой, однако нет исследований, доказывающих существование этой опухоли в костях и мягких тканях [20]. Кроме того, для эндометриальной стромальной саркомы характерна перестройка *YWHAЕ-FAM22*, не описанная среди пациентов с *YWHAЕ*-перестроенной саркомой костей и мягких тканей.

Саркома с транслокацией *YWHAЕ-NUTM2B*, по данным литературы, встречается только у младенцев

и новорожденных и локализуется в грудной стенке, конечностях, брюшной полости и почках. Опухоль крайне агрессивна, с высоким метастатическим потенциалом, часто фатальна [21].

Морфологически она схожа с другими саркомами с альтерациями гена *BCOR*, состоит из мономорфных клеток округлой формы с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением. Характерная и отличительная черта – коэкспрессия PanTRK и *BCOR*, позволяющая эффективно дифференцировать данный тип опухоли при условии отсутствия перестройки *BCOR* по FISH.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами представлено клиническое наблюдение саркомы с *BCOR-ITD* у мальчика 8 лет с поражением поясничного позвонка. Несмотря на то, что опухоль с внутренней tandemной дупликацией гена *BCOR* (*BCOR-ITD*), по данным литературы, встречается преимущественно у детей первого года жизни, данное клиническое наблюдение демонстрирует крайне типичные признаки саркомы с альтерациями гена *BCOR* в отношении как морфологической картины и иммунофенотипа, так и клинического поведения и ответа на терапию.

Также, в соответствии с данными литературы и исходя из собственного опыта, можно сделать вывод, что в большинстве случаев саркому с альтерациями гена *BCOR* можно диагностировать на догенетическом этапе при сопоставлении морфологической картины и характерного иммунофенотипа.

### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

### ORCID

Sidorov I.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8578-6572>

Fedorova A.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4699-1730>

Makarova N.P. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3387-3567>

Konopleva E.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6848-8714>

Sharlai A.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5354-7067>

Panferova A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8580-3499>

Druy A.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1308-8622>

Kononov D.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7732-8184>

## Литература

1. Sirisena U.D.N., Rajakulasingam R., Saifuddin A. Imaging of bone and soft tissue *BCOR*-rearranged sarcoma. *Skeletal Radiol* 2021; 50 (7): 1291–301. DOI: 10.1007/s00256-020-03683-7
2. Alaggio R., Ninio V., Rosolen A., Coffin C.M. Primitive myxoid mesenchymal tumor of infancy: a clinicopathologic report of 6 cases. *Am J Surg Pathol* 2006; 30 (3): 388–94. doi: 10.1097/01.pas.0000190784.18198.d8
3. Kao Y.C., Sung Y.S., Zhang L., Huang S.C., Argani P., Chung C.T., et al. Recurrent *BCOR* Internal Tandem Duplication and *YWHAENUTM2B* Fusions in Soft Tissue Undifferentiated Round Cell Sarcoma of Infancy: Overlapping Genetic Features with Clear Cell Sarcoma of Kidney. *Am J Surg Pathol* 2016; 40 (8): 1009–20. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000629
4. Grünewald T.G.P., Cidre-Aranaz F., Surdez D., Tomazou E.M., de Álava E., Kovar H., et al. Ewing sarcoma. *Nat Rev Dis Primers* 2018; 4 (1): 5. DOI: 10.1038/s41572-018-0003-x
5. Pierron G., Tirode F., Lucchesi C., Reynaud S., Ballet S., Cohen-Gogo S., et al. A new subtype of bone sarcoma defined by *BCOR-CCNB3* gene fusion. *Nat Genet* 2012; 44 (4): 461–6. DOI: 10.1038/ng.1107
6. Puls F., Niblett A., Marland G., Gaston C.L., Douis H., Mangham D.C., et al. *BCOR-CCNB3* (Ewing-like) sarcoma: a clinicopathologic analysis of 10 cases, in comparison with conventional Ewing sarcoma. *Am J Surg Pathol* 2014; 38 (10): 1307–18. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000223
7. Kao Y.C., Owosho A.A., Sung Y.S., Zhang L., Fujisawa Y., Lee J.C., et al. *BCOR-CCNB3* Fusion Positive Sarcomas: A Clinicopathologic and Molecular Analysis of 36 Cases With Comparison to Morphologic Spectrum and Clinical Behavior of Other Round Cell Sarcomas. *Am J Surg Pathol* 2018; 42 (5): 604–15. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000965
8. Matsuyama A., Shiba E., Umekita Y., Nosaka K., Kamio T., Yanai H., et al. Clinicopathologic Diversity of Undifferentiated Sarcoma With *BCOR-CCNB3* Fusion: Analysis of 11 Cases With a Reappraisal of the Utility of Immunohistochemistry for *BCOR* and *CCNB3*. *Am J Surg Pathol* 2017; 41 (12): 1713–21. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000934
9. Cohen-Gogo S., Cellier C., Coindre J.M., Mosseri V., Pierron G., Guillemet C., et al. Ewing-like sarcomas with *BCOR-CCNB3* fusion transcript: a clinical, radiological and pathological retrospective study from the Société Française des Cancers de L'Enfant. *Pediatr Blood Cancer* 2014; 61 (12): 2191–8. DOI: 10.1002/pbc.25210
10. Rekhi B., Kembhavi P., Mishra S.N., Shetty O., Bajpai J., Puri A. Clinicopathologic features of undifferentiated round cell sarcomas of bone & soft tissues: An attempt to unravel the *BCOR-CCNB3*- & *CIC-DUX4*-positive sarcomas. *Indian J Med Res* 2019; 150 (6): 557–74. DOI: 10.4103/ijmr.IJMR\_2144\_18
11. Peters T.L., Kumar V., Polikepahad S., Lin F.Y., Sarabia S.F., Liang Y., et al. *BCOR-CCNB3* fusions are frequent in undifferentiated sarcomas of male children. *Mod Pathol* 2015; 28 (4): 575–86. DOI: 10.1038/modpathol.2014.139
12. Yamada Y., Kuda M., Kohashi K., Yamamoto H., Takemoto J., Ishii T., et al. Histological and immunohistochemical characteristics of undifferentiated small round cell sarcomas associated with *CIC-DUX4* and *BCOR-CCNB3* fusion genes. *Virchows Arch* 2017; 470 (4): 373–80. DOI: 10.1007/s00428-017-2072-8
13. Renzi S., Anderson N.D., Light N., Gupta A. Ewing-like sarcoma: An emerging family of round cell sarcomas. *J Cell Physiol* 2019; 234 (6): 7999–8007. DOI: 10.1002/jcp.27558
14. Ludwig K., Alaggio R., Zin A., Peron M., Guzzardo V., Benini S., et al. *BCOR-CCNB3* Undifferentiated Sarcoma-Does Immunohistochemistry Help in the Identification? *Pediatr Dev Pathol* 2017; 20 (4): 321–9. DOI: 10.1177/1093526617698263
15. Specht K., Zhang L., Sung Y.S., Nucci M., Dry S., Vaiyapuri S., et al. Novel *BCOR-MAML3* and *ZC3H7B-BCOR* Gene Fusions in Undifferentiated Small Blue Round Cell Sarcomas. *Am J Surg Pathol* 2016; 40 (4): 433–42. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000591
16. Antonescu C.R., Kao Y.C., Xu B., Fujisawa Y., Chung C., Fletcher C.D.M., et al. Undifferentiated round cell sarcoma with *BCOR* internal tandem duplications (ITD) or *YWHAENUTM2* fusions: a clinicopathologic and molecular study. *Mod Pathol* 2020; 33 (9): 1669–77. DOI: 10.1038/s41379-020-0557-5
17. Sbaraglia M., Righi A., Gamba-rotti M., Dei Tos A.P. Ewing sarcoma and Ewing-like tumors. *Virchows Arch* 2020; 476 (1): 109–19. DOI: 10.1007/s00428-019-02720-8
18. Kao Y.C., Sung Y.S., Argani P., Swanson D., Alaggio R., Tap W., et al. *NTRK3* overexpression in undifferentiated sarcomas with *YWHAENUTM2* oncoprotein regulates proliferation and cyclin D1 via *RAF/MAPK* and *Hippo* pathways. *Oncogenesis* 2021; 10 (5): 37. DOI: 10.1038/s41389-021-00327-w
19. Ou W.B., Lundberg M.Z., Zhu S., Bahri N., Kyriazoglou A., Xu L., et al. *YWHAENUTM2* oncoprotein regulates proliferation and cyclin D1 via *RAF/MAPK* and *Hippo* pathways. *Oncogenesis* 2021; 10 (5): 37. DOI: 10.1038/s41389-021-00327-w
20. Antonescu C. Round cell sarcomas beyond Ewing: emerging entities. *Histopathology* 2014; 64 (1): 26–37. DOI: 10.1111/his.12281
21. Sadri N., Barroeta J., Pack S.D., Abdullaev Z., Chatterjee B., Puthiyaveetil R., et al. Malignant round cell tumor of bone with *EWSR1-NFATC2* gene fusion. *Virchows Arch* 2014; 465 (2): 233–9. DOI: 10.1007/s00428-014-1613-7



© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ  
им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России  
Поступила 17.08.2022  
Принята к печати 12.09.2022

DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-90-99

# Мультифокальный лимфангиоэндотелиоматоз с тромбоцитопенией/кожно- висцеральный ангиоматоз с тромбоцитопенией

Л.А. Хачатрян, И.С. Клецкая, А.П. Щербakov

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

## Контактная информация:

Хачатрян Лили Альбертовна,  
канд. мед. наук, заведующая  
боксованным отделением гематологии/  
онкологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ  
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России  
Адрес: 117997, Москва,  
ул. Саморы Машела, 1  
E-mail: lili.2510@yandex.ru

Мультифокальный лимфангиоэндотелиоматоз с тромбоцитопенией (МЛТ)/кожно-висцеральный ангиоматоз с тромбоцитопенией, описанный в 2004 г. в качестве новой нозологической единицы, представляет собой крайне редкую сосудистую патологию неонатального периода без доказанного наследственного характера с очень плохим прогнозом. По данным ранее описанных случаев, для этой сосудистой патологии, которая относится к так называемым гемангио-лимфангиогенным сосудистым аномалиям, характерно вовлечение в патологический процесс кожи и внутренних органов с практически обязательным поражением желудочно-кишечного тракта. Летальность, которая, по данным некоторых публикаций, может достигать более 50%, обусловлена преимущественно fulminantными желудочно-кишечными кровотечениями в результате специфического поражения слизистой на фоне выраженной тромбоцитопении и коагулопатии потребления. В настоящее время не существует стандартов терапии МЛТ. Эффективность применяемых лекарственных препаратов, таких как глюкокортикостероиды, винкристин, талидомид, пропранолол, рапамицин, неоднозначна. В данной статье приведен пример МЛТ с классическим спектром клинических проявлений этой редкой нозологии. Впервые при лечении этого заболевания была применена полихимиотерапия с использованием липосомальной формы доксорубина, которая позволила через 2 мес от начала терапии достичь полного гематологического ответа и через 6 мес – стойкого клинического ответа. Безусловно, этот сложный как с диагностической, так и с терапевтической точки зрения диагноз требует дальнейшего изучения в целях поиска оптимальных режимов этиологически и патогенетически обоснованной терапии. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

**Ключевые слова:** мультифокальный лимфангиоэндотелиоматоз, сосудистая аномалия, тромбоцитопения

Хачатрян Л.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022; 21 (3): 90–99. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-90-99

© 2022 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 17.08.2022  
Accepted 12.09.2022

## Multifocal lymphangioendotheliomatosis with thrombocytopenia/ cutaneovisceral angiomatosis with thrombocytopenia

L.A. Khachatryan, I.S. Kletskaia, A.P. Scherbakov

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

## Correspondence:

Lili A. Khachatryan,  
Cand. Med. Sci., Head of Box Department  
of Hematology/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.,  
117997, Moscow, Russia  
E-mail: lili.2510@yandex.ru

Multifocal lymphangioendotheliomatosis with thrombocytopenia (MLT)/cutaneovisceral angiomatosis with thrombocytopenia, first reported as a new nosological entity in 2004, is an extremely rare vascular pathology of the neonatal period without hereditary nature. This disease has an extremely poor prognosis. According to the previously published data, this vascular pathology is characterized by involvement of the skin and internal organs in the pathological process. Lesions of the gastrointestinal tract are almost obligatory in this disease. MLT is associated with high mortality, which, according to some authors, can reach more than 50%. Fulminant gastrointestinal bleedings due to specific lesions of the intestinal mucosa, severe thrombocytopenia and consumption coagulopathy, are the leading cause of death in these patients. Currently, there are no standard treatment options for MLT. The data about the efficacy of glucocorticosteroids, vincristine, thalidomide, propranolol, and rapamycin in the treatment of MLT, are controversial. Here we present a case report of a patient with MLT with a classic clinical spectrum of this disease. We first report on the efficacy of a polychemotherapeutic regimen with liposomal doxorubicin in the treatment of this disease: the patient achieved a complete hematological response after 2 months from the treatment start. A durable clinical response was documented after 6 months of treatment. This disease represents challenges, both from a diagnostic and therapeutic point of view. Further studies are required to find the optimal treatment regimens for this condition. The patient's parents have consented to the use of de-identified clinical information and photos of the patient in scientific research and publications.

**Key words:** multifocal lymphangioendotheliomatosis, vascular anomaly, thrombocytopenia

Khachatryan L.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (3): 90–99.  
DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-90-99

**М**ультифокальный лимфангиоэндотелиоматоз с тромбоцитопенией (МЛТ), также называемый кожно-висцеральным ангиоматозом

с тромбоцитопенией, впервые был описан в 2004 г. [1] в качестве новой нозологической единицы, ранее в литературе мог фигурировать под другими назва-

ниями (доброкачественная лимфангиоэндотелиома и др.) [2].

МЛТ – редкая патология. Частота встречаемости неизвестна, возможно, из-за того, что МЛТ часто остается нераспознанным. С 2004 по 2021 г. в литературе описано приблизительно 30 случаев [3].

Наследственный характер заболевания, как и наличие мутаций в тех или иных генах, встречающихся при других сосудистых аномалиях, в настоящее время в литературе не описаны [3].

### Клиническая характеристика

МЛТ – это тяжелое заболевание неонатального периода с неблагоприятным прогнозом, характеризующееся мультифокальной пролиферацией лимфатических сосудов и сопровождающееся тромбоцитопенией различной степени выраженности. Не существует стандартных диагностических критериев, что обусловлено фенотипической вариабельностью. Клинические симптомы выявляются уже в периоде новорожденности: множественные диссеминированные (мультифокальные) сосудистые образования, изменчивые в динамике, мягкоэластической консистенции. Инициально кожа над ними не изменена, впоследствии патологические элементы могут быть представлены пятнами, овальными или округлыми красновато-коричневыми папулами или бляшками, имеющими диаметр от нескольких миллиметров до нескольких сантиметров, с преимущественной локализацией на конечностях. Отмечается поражение глубоких мягких тканей, включая подкожную жировую ткань, кости. При данной сосудистой аномалии характерно висцеральное поражение (кожно-висцеральный ангиоматоз с тромбоцитопенией – второе название заболевания) с практически постоянным вовлечением в патологический процесс желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), что приводит к желудочно-кишечным кровотечениям. Аналогичные образования могут также выявляться в легких, печени, селезенке, поперечнополосатых мышцах, синовиальных оболочках, костях.

Метаанализ ранее опубликованных случаев показал, что частота вовлечения кожи составляет 88%, ЖКТ – 89%, легких – 42%, костно-мышечной системы – 35%, центральной нервной системы (ЦНС) – 19%, периферической нервной системы – 10%, печени и почек – 9%, сердца – 5% и глаз – 5% [3].

В общем анализе крови отмечается тромбоцитопения, а также железодефицитная анемия. Тромбоцитопения является вторичной и обусловлена потреблением в новообразованных сосудах вследствие взаимодействия рецептора CLEC-2 (C-type lectine-like receptor 2) тромбоцитов со своим лигандом – подопланином, экспрессирующимся на эндотелии лимфатических сосудов [4]. Железодефи-

цитная анемия же связана с самыми частыми осложнениями МЛТ – жизнеугрожающими кровотечениями из пораженных участков ЖКТ и ЦНС.

Наиболее частыми клиническими проявлениями являются поражения кожи и слизистых оболочек ЖКТ. Однако были описаны случаи с минимальным или отсроченным вовлечением кожи [5, 6] или без поражения ЖКТ [7, 8]. Несмотря на название этого редкого заболевания, которое включает термин «тромбоцитопения», были описаны редкие случаи с нормальным количеством тромбоцитов [8, 9].

Диагноз устанавливается на основании клинических данных с обязательной гистологической верификацией.

### Гистологические изменения

Патологические сосуды локализуются в дерме и подкожной жировой ткани. Они представлены множественными разнокалиберными эктазированными тонкостенными капиллярами, выстланными одним слоем уплощенных эндотелиальных клеток. Патогномоничным является очаговое формирование комплексных папиллярных эндотелиальных структур с пролабированием в просвет сосудов. Митотическая активность не определяется или низкая, при этом уровень пролиферативной активности повышен (до 15%).

При иммуногистохимическом исследовании в эндотелии определяются экспрессия CD31, CD34, LYVE1, вариабельная слабая или очаговая экспрессия подопланина [10]. Эти маркеры являются чувствительными, но не специфичными для МЛТ [11, 12].

Прогноз неблагоприятный, обусловлен желудочно-кишечными кровотечениями, кровоизлияниями в ЦНС и другими висцеральными поражениями. Летальность, по данным одного из исследований, составляет до 65% [13].

### КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

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

Из анамнеза известно, что ребенок болен с первых месяцев жизни, когда на коже в области шеи и правого лучезапястного сустава определялись элементы в виде красных пятен с последующим распространением по передней поверхности грудной клетки. Тогда же в общем анализе крови была выявлена тромбоцитопения.

С диагнозом «ангиодисплазия области грудной клетки» ребенок наблюдался онкогематологом до 7-летнего возраста. По мере прогрессирования заболевания и увеличения степени вовлечения мягких тканей грудной клетки присоединялись новые клинические симптомы:

1. Усугубление локальных изменений в области основного очага (грудная клетка):

- появление, нарастание и сохранение болевого синдрома в области грудной клетки;
- выраженный отек;
- деформация грудной клетки («бочкообразная»);
- ограничение движений в плечевом суставе.

2. Системные проявления:

- появление и нарастание слабости, снижение аппетита, психическая лабильность;
- бледность кожи;
- нарастание геморрагического синдрома: длительные носовые кровотечения, кровотечение из ЖКТ (мелена).

3. Лабораторные изменения:

- в общем анализе крови отмечалась двухростковая цитопения: микроцитарная анемия (гемоглобин 76–82 г/л), тромбоцитопения (тромбоциты  $25\text{--}64 \times 10^9/\text{л}$ );
- в биохимическом анализе крови – гипопроteinемия (гипоальбуминемия, гипогаммаглобулинемия);
- в коагулограмме – стойкая гипофибриногенемия (фибриноген менее 1 г/л, минимально 0,68 г/л).

4. Изменения в компьютерной (КТ) и магнитно-резонансной (МРТ) томограммах:

- КТ (возраст 7 лет): многоузловое мягкотканное образование аксиллярной области справа, оттесняющее кпереди грудные мышцы, размерами  $28 \times 22$  мм. Деформация грудной клетки, 1-го и 2-го ребер справа, правой ключицы, деструкция и деформация грудины, снижение плотности позвонков;
- МРТ (возраст 7 лет): в проекции поджелудочной железы определяется конгломерат тканей

с повышенной экзогенностью солидного характера, который муфтообразно охватывает магистральные сосуды. Мелкоочаговое поражение селезенки (очаги до 7–8 мм), очаговые изменения тел грудных и поясничных позвонков (Th10–12, L2).

По месту жительства ребенку проводилась консервативная терапия:

1. Специфическая:

- такролимус на протяжении 7 мес в дозе 2 мг/сут (лечение периодически прерывалось);
- преднизолон в стартовой дозе 4 мг/кг/сут на протяжении 2 мес.

2. Сопроводительная:

- заместительная терапия раствором альбумина;
- заместительная терапия препаратами крови (эритроцитарная и тромбоцитарная массы, свежезамороженная плазма);
- препараты железа, антифибринолитики.

На фоне проводимой терапии отмечался кратковременный незначительный эффект в виде уменьшения локального отека и геморрагического синдрома с повышением тромбоцитов до  $100 \times 10^9/\text{л}$  (максимальные цифры). После отмены терапии – ухудшение клинического статуса и потеря гематологического ответа.

В возрасте 8 лет ребенок поступил в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. При осмотре отмечаются деформация грудной клетки («бочкообразная»), ее асимметрия за счет наличия на передней поверхности инфильтративного образования с множественными мелкими ярко-красными с синюшным оттенком папулезными образованиями, выраженный локальный отек мягких тканей, распространенный геморрагический синдром, локальный гипергидроз (рисунки 1).

#### Рисунок 1

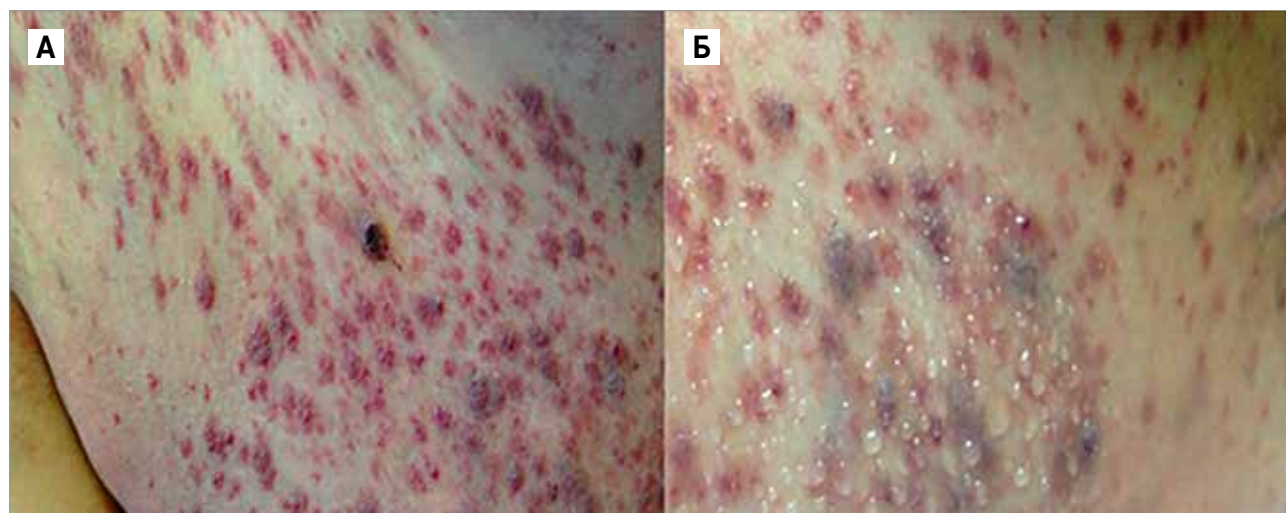
Клинические проявления МЛТ на коже (передняя поверхность грудной клетки)

А – определяются множественные ярко-красные с синюшным оттенком образования пятнисто-папулезного характера; Б – локальный гипергидроз в виде капель росы, петехиальная сыпь

Figure 1

Clinical manifestation of multifocal lymphangioendotheliomatosis with thrombocytopenia (MLT) on the skin (anterior surface of the chest)

А – multiple bright-red maculopapular formations with a bluish tinge; Б – local hyperhidrosis (“dew drops”), petechial rash



Движения в правом плечевом суставе значительно ограничены за счет болевого синдрома и выраженных инфильтративных изменений. Обращают на себя внимание бледность кожи и петехиальная сыпь на туловище и конечностях. Пальпируется увеличенная селезенка (+2 см из-под края левой реберной дуги).

Периодически также отмечались болевой синдром в брюшной полости, черный стул, что сопровождалось снижением гемоглобина.

При лабораторном обследовании были выявлены следующие изменения:

1. В общем анализе крови: анемия (минимальный уровень гемоглобина 80 г/л), тромбоцитопения (тромбоциты  $8-22 \times 10^9/\text{л}$ ).

2. В коагулограмме: гипофибриногенемия (фибриноген 0,47 г/л), повышение Д-Димера 3800–7716–14186 нг/мл.

3. Гипоальбуминемия.

По данным визуализации (МРТ и КТ органов грудной клетки и брюшной полости) определяются изменения со стороны мягких тканей, висцеральных органов и костей:

1. В мягких тканях грудной клетки – диффузная зона неоднородных изменений неправильной формы (множественные образования различных размеров, наибольшее  $2 \times 2 \times 1,5$  см), без четких контуров, с умеренным накоплением контрастного вещества. Утолщение клетчатки, ее неоднородная тягистость (рисунк 2).

2. Изменения со стороны внутренних органов:

– увеличение селезенки с наличием множественных, слабо накапливающих контраст образований, занимающих 90% органа, по данным КТ (рисунк 3); гиперинтенсивные включения с умеренным накоплением парамагнетика в селезенке по данным МРТ (рисунки 2, 4);

– поджелудочная железа неоднородная за счет множественных гиподенсивных очагов, слабо накапливающих контраст, занимающих большую часть паренхимы. КТ: парапанкреатическая клетчатка инфильтрирована и уплотнена (рисунк 3). МРТ: гиперинтенсивные включения с умеренным накоплением парамагнетика в поджелудочной железе (рисунк 4).

3. Изменения со стороны костных структур:

– в телах позвонков (Th3,10–12) выявлены гемангиомы на фоне жировой дегенерации (рисунк 5);

– деформация большинства костей, составляющих каркас грудной клетки: в грудине, правых ключице и лопатке определяются участки разрежения и уплотнения костной структуры, в головке 2-го ребра справа – истончение кортикального слоя до 2 мм;

– множественные участки разрежения и уплотнения костной структуры обеих подвздошных костей, больше справа (рисунк 6).

4. Изменение со стороны лимфатических узлов (ЛУ):

– регионарные – подмышечные ЛУ до 16 мм;  
– по ходу сосудов брыжейки, забрюшинно и в полости малого таза определяются многочисленные конгломераты ЛУ, активно накапливающие контраст, размером до 15 мм.

Гистологическое исследование биоптата кожи (рисунк 7): эпидермис с признаками умеренного гиперкератоза и акантоза. В дерме определяются придатки кожи в виде волосных фолликулов и протоков потовых желез. В дерме выявлено большое количество щелевидных и эктазированных сосудов, выстланных неравномерно распределенными эндотелиоцитами, очагово формирующих папиллярные структуры. Эндотелиальные клетки экспрессируют подоплаин (рисунк 7В), отсутствует экспрессия VEGF, Flk1, CD34, CD31. Заключение: с учетом клинических данных гистологические изменения соответствуют МЛТ.

На основании данных клинической картины и проведенных исследований был поставлен диагноз: МЛТ.

После верификации диагноза ребенку была инициирована специфическая монотерапия пропранололом (PP) в дозе 2 мг/кг/сут, которая в течение

#### Рисунк 2

МРТ органов грудной клетки и брюшной полости, коронарная проекция, T2-взвешенное изображение (T2-WI), FatSat (с подавлением жира)

В мягких тканях правой аксиллярной области и шеи определяется инфильтративное образование с высоким сигналом (синяя стрелка). Отмечена неоднородная структура паренхимы селезенки (желтая стрелка)

#### Figure 2

Magnetic resonance imaging (MRI) of the chest and abdomen, coronal view, T2 weighted image (T2WI), FatSat (fat suppression technique)

An infiltrative formation with a high signal in the soft tissues of the right axillary region and the soft tissues of the neck (blue arrow). Heterogeneous structure of the spleen parenchyma (yellow arrow)





**Рисунок 3**

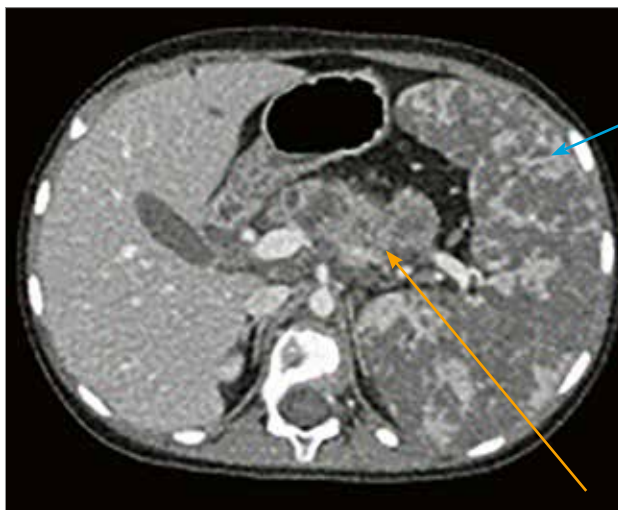
КТ органов брюшной полости, аксиальная проекция; венозная фаза

В селезенке определяются множественные патологические очаги, слабо накапливающие контраст (синяя стрелка), в поджелудочной железе – множественные гиподенсивные очаги, слабо накапливающие контраст (желтая стрелка)

**Figure 3**

A computed tomography (CT) scan of the abdomen, axial view, venous phase

Multiple pathological foci with low contrast accumulation in the spleen (blue arrow), multiple hypodense foci with low contrast accumulation in the pancreas (yellow arrow)

**Рисунок 4**

МРТ органов брюшной полости, аксиальная проекция, T2-ВИ, FatSat (с подавлением жира)

Неоднородная структура паренхимы селезенки (желтая стрелка) и поджелудочной железы (синяя стрелка) с формированием кистозных включений

**Figure 4**

MRI of the abdomen, axial view, T2WI, FatSat (fat suppression technique)

Heterogeneous structure of the spleen parenchyma (yellow arrow) and pancreas (blue arrow), with cystic inclusions



2 мес не показала своей эффективности, в связи с чем была назначена комбинированная полихимиотерапия (ПХТ) в объеме:

1. Метрoномная терапия (МТ): циклофосфан в дозе 50 мг/м<sup>2</sup>/сут (суммарно 750 мг/м<sup>2</sup>) в течение 14 дней + винбластин в дозе 1 мг/м<sup>2</sup> 3 раза в неделю (суммарно 6 мг/м<sup>2</sup>);

**Рисунок 5**

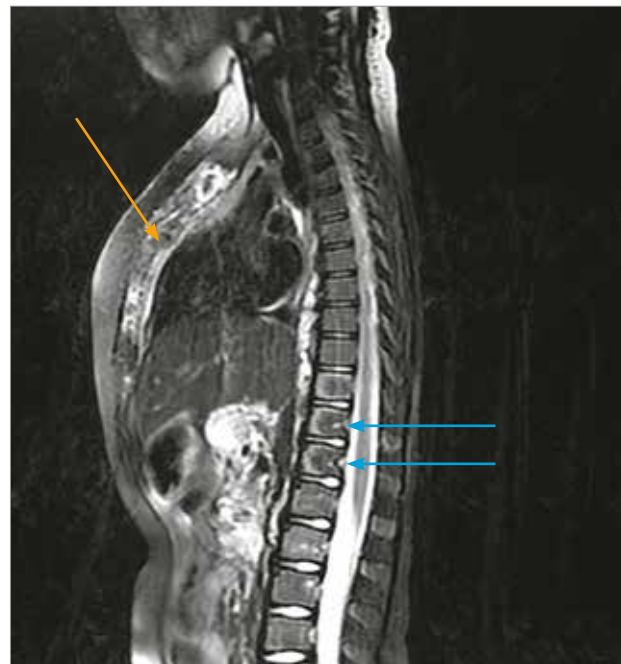
МРТ позвоночника, сагиттальная проекция, T2-ВИ, FatSat (с подавлением жира)

Определяются нарушения структуры грудины с признаками окружающей мягкотканной инфильтрации (желтая стрелка), патологические изменения тел грудных позвонков (синие стрелки)

**Figure 5**

MRI of the spine, sagittal view, T2WI, FatSat (with fat suppression)

Changes of the sternal structure, infiltration of the surrounding soft tissues (yellow arrow), pathological changes in the bodies of the thoracic vertebrae (blue arrows)

**Рисунок 6**

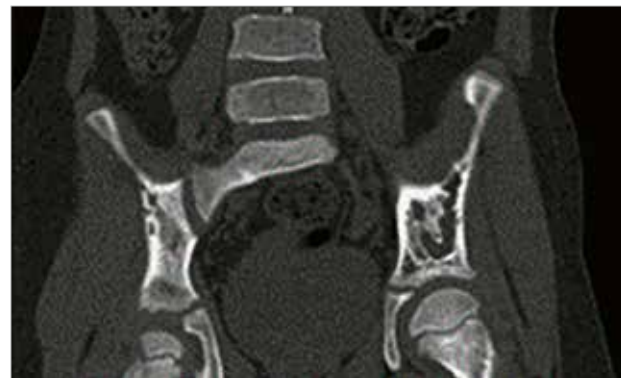
КТ костей таза, нативная фаза, коронарная проекция

Наблюдаются участки множественного разрежения и уплотнения костей таза

**Figure 6**

CT scan of the pelvic bones, native phase, coronal view

Multiple regions of rarefaction and compaction of the pelvic bones



2. Липосомальная форма доксорубицина («Келикс») в дозе 45 мг/м<sup>2</sup> с кратностью 1 раз в 28 дней.

Всего было проведено 6 курсов МТ и 6 введений липосомальной формы доксорубицина.

Специфическая терапия проводилась на фоне сопроводительной:

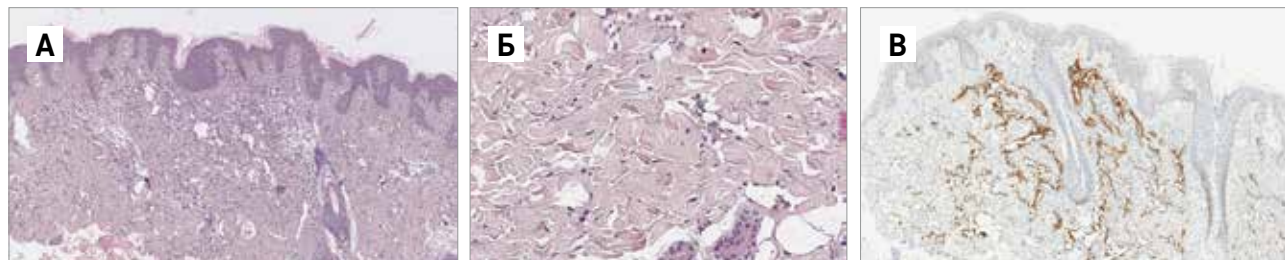


**Рисунок 7**

А – многочисленные щелевидные анастомозирующие сосуды в дерме. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ ; Б – в просвете сосудов определяются папиллярные эндотелиальные структуры. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 350$ ; В – экспрессия подопланина в эндотелии,  $\times 100$

**Figure 7**

А – numerous slit-like anastomosing vessels in the dermis. Hematoxylin and eosin (H&E) staining,  $\times 100$ ; Б – papillary endothelial structures in the vessel lumens. H&E staining,  $\times 350$ ; В – podoplanin expression in endothelium,  $\times 100$

**Рисунок 8**

Локальные клинические проявления МЛТ в динамике (передняя поверхность грудной клетки). Вторичные участки гиперпигментации на месте первичных пятнисто-папулезных образований

**Figure 8**

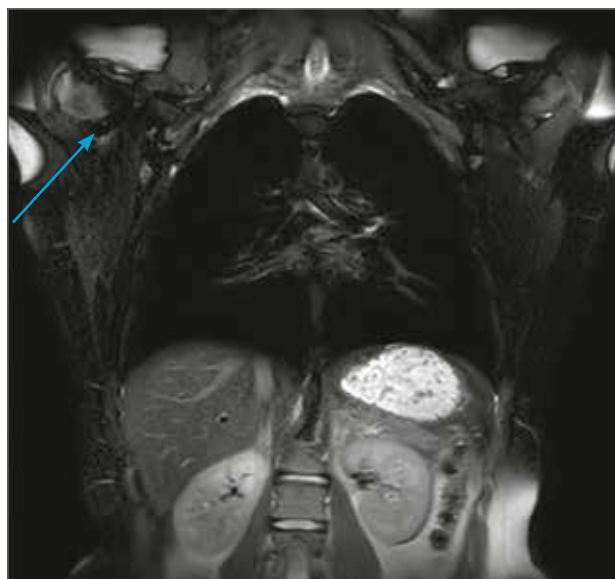
Local clinical manifestation of MLT in dynamics (anterior surface of the chest). Secondary hyperpigmentation at the site of primary maculopapular lesions

**Рисунок 9**

МРТ грудной клетки, коронарная проекция, T2-ВИ, FatSat (с подавлением жира). Остаточные признаки патологического образования правой аксиллярной области и мягких тканей шеи (синяя стрелка)

**Figure 9**

MRI of the chest, coronal view, T2WI, FatSat (fat suppression technique). Residual signs of the pathological formation of the right axillary region and soft tissues of the neck (blue arrow)



1. Заместительная трансфузионная терапия (эритроцитная взвесь, свежезамороженная плазма/криопреципитат);

2. Антифибринолитическая терапия (транексам/аминокапроновая кислота (АКК));

3. Анальгетическая терапия (трамал/морфин).

После 2 курсов ПХТ был достигнут полный гематологический ответ с восстановлением показателей гемограммы (тромбоциты  $338 \times 10^9/\text{л}$ ) и коагулограммы (фибриноген 1,89 г/л, Д-Димер 373 нг/мл). Кроме того, отмечена положительная клиническая динамика в виде купирования отека в области грудной клетки (основных очагов изменений на коже), болевого и геморрагического синдромов, включая желудочно-кишечные кровотечения; на

месте «геморрагических» узелков – вторичная гиперпигментация (рисунок 8).

По данным МРТ органов грудной клетки и брюшной полости после проведенных 4 курсов ПХТ отмечается положительная динамика в виде:

– сокращения размеров и количества образований в мягких тканях грудной клетки (рисунок 9);

– нормализации размеров печени, селезенки и поджелудочной железы (рисунок 10) с сохранением их неоднородности за счет множественных мелких гиперинтенсивных включений на T2-ВИ и T2-FatSat;

– нормализации размеров ЛУ.

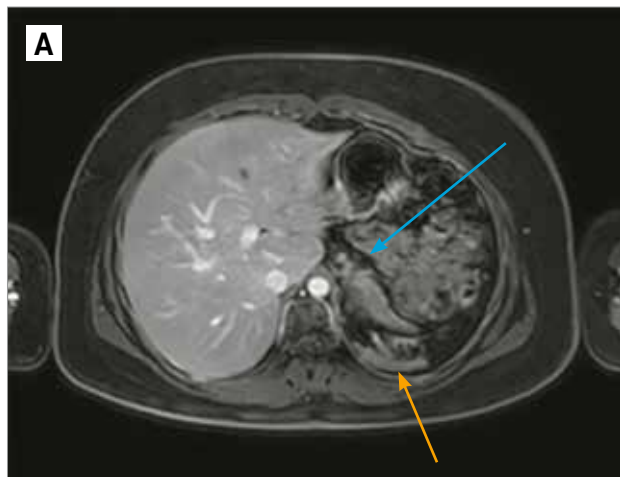
Однако сохраняются изменения со стороны очагов специфического поражения костных структур (рисунок 11).

**Рисунок 10**

А – МРТ брюшной полости, аксиальная проекция, T1-ВИ, артериальная фаза сканирования; Б – КТ брюшной полости, аксиальная проекция, артериальная фаза сканирования  
В динамике отмечается резкое уменьшение размеров селезенки (желтая стрелка), а также восстановление нормальной паренхимы поджелудочной железы (синяя стрелка)

**Figure 10**

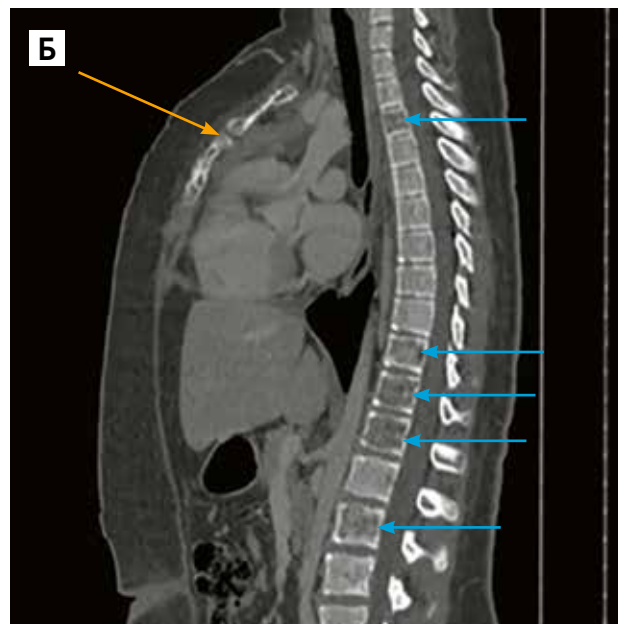
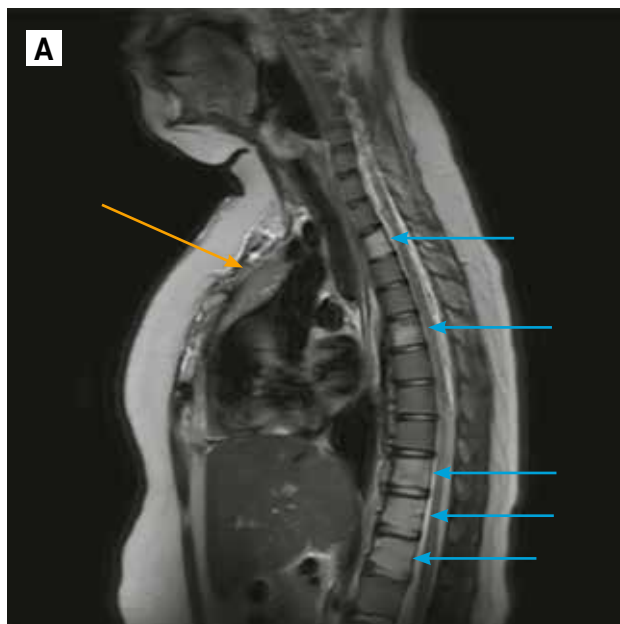
A – MRI of the abdomen, axial view, T1WI, arterial phase; B – CT scan of the abdomen, axial view, arterial phase  
A marked reduction in spleen size (yellow arrow) and a restoration of the normal pancreatic parenchyma (blue arrow) in the dynamics

**Рисунок 11**

А – МРТ позвоночника, сагиттальная проекция, T2-ВИ; Б – КТ позвоночника, сагиттальная реконструкция, венозная фаза сканирования  
Сохраняется остаточное нарушение структуры грудины, однако уже без признаков окружающей мягкотканной инфильтрации (желтая стрелка), патологические изменения тел грудных позвонков (синие стрелки)

**Figure 11**

A – MRI of the spine, sagittal view, T2WI; Б – CT of the spine, sagittal reconstruction, venous phase  
Residual changes of the sternal structure with no infiltration of the surrounding soft tissues (yellow arrow), pathological changes in the bodies of the thoracic vertebrae (blue arrows)



## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Существует ряд других сосудистых заболеваний, характеризующихся мультифокальным поражением кожи с презентацией в неонатальном периоде/раннем возрасте. Они представлены в *таблице*. Эти патологические состояния должны формировать

дифференциально-диагностический ряд при подозрении на МЛТ. Несмотря на некоторую схожесть клинических проявлений, каждая из них имеет свои особенности, но главным отличием этих сосудистых аномалий является отсутствие гематологических осложнений, а именно тромбоцитопении и коагулопатии потребления. Однако необходимо отметить, что зачастую венозные мальформации

**Таблица**  
Мультифокальные сосудистые аномалии [1]

Table  
Multifocal vascular abnormalities [1]

| Заболевание<br>Disease                                                                                                                                                | Тип сосудистой аномалии<br>Type of vascular anomaly                                                                                                                                                                                                              | Источники<br>Sources |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| Неонатальный гемангиоматоз<br>Neonatal hemangiomatosis                                                                                                                | Инфантильные гемангиомы<br>Infantile hemangiomas                                                                                                                                                                                                                 | [14]                 |
| Синдром синего резинового пузырьного невуса (Синдром Бина)<br>Blue rubber bleb nevus syndrome (Bean syndrome)                                                         | Венозные мальформации<br>Venous malformations                                                                                                                                                                                                                    | [15]                 |
| Мультифокальные (аутосомно-доминантные) гломувенозные мальформации (гломангиомы)<br>Multifocal (autosomal dominant) glomuvenous malformations (glomangiomas)          | Венозные мальформации с гломусными клетками<br>Venous malformations with glomus cells                                                                                                                                                                            | [16, 17]             |
| Синдром Маффуччи<br>Maffucci syndrome                                                                                                                                 | Венозные мальформации и веретенноклеточные гемангиомы<br>Venous malformations and spindle-cell hemangiomas                                                                                                                                                       | [18]                 |
| Наследственная геморрагическая телеангиэктазия<br>Hereditary hemorrhagic telangiectasia                                                                               | Артериовенозные мальформации, расширенные артериолы и венулы<br>Arteriovenous malformations, dilated arterioles and venules                                                                                                                                      | [19–21]              |
| Семейные (аутосомно-доминантные) кожно-мозговые капиллярные мальформации<br>Familial (autosomal dominant) cerebrocutaneous capillary malformations                    | Церебральные капиллярно-венозные мальформации, иногда в сочетании с кожными гиперкератотическими капиллярно-венозными мальформациями<br>Cerebral capillary-venous malformations, sometimes combined with cutaneous hyperkeratotic capillary-venous malformations | [22, 23]             |
| Семейные (аутосомно-доминантные) мультифокальные слизисто-кожные венозные мальформации<br>Familial (autosomal dominant) multifocal mucocutaneous venous malformations | Венозные мальформации<br>Venous malformations                                                                                                                                                                                                                    | [24, 25]             |

могут сопровождаться легкой тромбоцитопенией и незначительным повышением уровня Д-Димера, косвенно указывающих на наличие тромботических осложнений, а железодефицитная анемия может быть проявлением поражения слизистой оболочки ЖКТ.

Не существует стандартов лечения МЛТ. Помимо сопроводительной терапии, которая включает в себя трансфузионную, в настоящее время применяется широкий спектр лекарственных препаратов, в частности глюкокортикостероиды (ГКС), винкристин (Vcr), талидомид, PP, АКК, октреотид, бевацизумаб и рапамицин. Оценить эффективность каждого из них не представляется возможным, так как речь идет о единичных случаях применения этих препаратов в виде монотерапии или в составе комбинированной терапии.

Имеются сообщения различных клинических ответов у пациентов с МЛТ на ГКС в монорежиме или в сочетании с талидомидом, Vcr [26–31] или интерфероном альфа. Комбинация ГКС с этими препаратами приводит в большинстве случаев к прекращению легочного кровотечения [27]. Аналогичный эффект – практически полное разрешение легочных очагов и геморрагического синдрома (легочные кровотечения, кровотечения в ЦНС) – был описан при применении ГКС в комбинации с PP и АКК [5, 7]. Однако имеются противоречивые сообщения об отсутствии или недостаточном ответе на ГКС в виде монотерапии [1, 30] или в комбинации с Vcr [28] в отношении желудочно-кишечных кровотечений и при экстенсивном поражении кожи [32]. Аналогично в другом исследовании опубликовано отсутствие эффекта ГКС на жизнеугрожающее желудочно-ки-

шечное кровотечение, которое успешно удалось купировать бевацизумабом [30]. Единичный случай комбинированной терапии АКК с октреотидом также не показал эффекта в отношении купирования желудочно-кишечных кровотечений [32]. При этом есть сообщение об эффективности талидомида, терапия которым привела к купированию желудочно-кишечных кровотечений и очагов на коже [32].

Неоднозначные результаты получены при лечении МЛТ ингибитором mTOR рапамицином, который в частности уменьшает уровень сосудистого эндотелиального фактора D – ключевого лимфангиогенного фактора, являясь эффективным препаратом при лечении многих комплексных сосудистых аномалий [33]. В некоторых публикациях [26, 34, 35] есть сообщения о хорошем ответе в виде сокращения диаметра очагов в паренхиматозных органах: почках, печени и легких [3, 26], а также купирования желудочно-кишечных кровотечений, которые наблюдались через 1–4 нед от начала терапии рапамицином. Было также описано улучшение гематологических показателей на фоне терапии данным препаратом [3, 28]. Что же касается кожных проявлений заболевания, а также литических очагов в костях, то ответ весьма сомнительный: описано их увеличение, несмотря на улучшение гастроэнтерологических симптомов [3, 5, 35].

Имеющиеся немногочисленные сообщения, касающиеся лечения МЛТ, свидетельствуют о большей эффективности и безопасности рапамицина даже у пациентов раннего возраста по сравнению с другими лекарственными препаратами.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Прошло почти два десятилетия с момента первого описания заболевания. К настоящему времени определены четкие критерии, тем не менее диагноз МЛТ является исключительно сложным как с клинической, так и с гистологической точки зрения. Редкость заболевания, а также непостоянная совокупность клинических симптомов не всегда делают диагноз очевидным, безусловно, во всех случаях необходима гистологическая верификация [10–12, 36]. Лечение очень сложное, требует мультидисциплинарного подхода. В настоящее время, по данным литературы, центральное место занимает рапамицин – ингибитор mTOR, который представляется неким универсальным препаратом при лечении большинства сосудистых аномалий.

В представленном же нами клиническом случае был достигнут клинко-гематологический ответ в виде восстановления всех показателей гемограммы и коагулограммы, а также купирования желудочно-кишечного кровотечения, уменьшения объема основного очага в мягких тканях грудной клетки и нивелирования очагов в паренхиматозных органах (селезенка, поджелудочная железа) в результате проведенной комбинированной метрoномной ПХТ с использованием липосомальной формы докс-

рубцина. Данная терапия при МЛТ была применена впервые и показала свою не только безопасность, но и высокую эффективность. Шестимесячный курс терапии позволил достичь быстрого гематологического (через 2 мес от начала лечения) и клинического (через 6 мес от начала терапии) ответов с сохранением стойкого продолжительного эффекта. На момент написания статьи период наблюдения составляет 7 лет. Возможно, эффективность данной схемы терапии не является случайной, а представляет собой закономерный факт эффективного воздействия в частности липосомальной формы доксорубина на лимфатический компонент сосудистой аномалии. Безусловно, требуется дальнейшее исследование для понимания оптимальной длительности терапии в целях достижения долгосрочного прогноза. Тем не менее не исключено, что будущее за таргетной терапией, которая будет очевидна после выявления молекулярных механизмов развития данного 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

- North P., Kahn T., Cordisco M., Dadras S., Detmar M., Frieden I. Multifocal lymphangioendotheliomatosis with thrombocytopenia: a newly recognized clinicopathological entity. *Arch Dermatol* 2004; 140 (5): 599–606.
- Wilson-Jones E. Malignant vascular tumors. *Clin Exp Dermatol* 1976; 1 (4): 287–312. DOI: 10.1111/j.1365-2230.1976.tb01435.x
- Manor J., Patel K., Jacobas I., Margolin J.F., Mahajan P. Clinical variability in multifocal lymphangioendotheliomatosis with thrombocytopenia: a review of the literature. *Pediatr Hematol Oncol* 2021; 38 (4): 367–77. DOI: 10.1080/08880018.2020.1871135
- Bertozzi C.C., Schmaier A.A., Mericko P., Hess P.R., Zou Z., Chen M., et al. Platelets regulate lymphatic vascular development through CLEC-2-SLP-76 signaling. *Blood* 2010; 116 (4): 661–70. DOI: 10.1182/blood-2010-02-270876
- Com G., Awad S., Trenor C.C. Delayed appearance of cutaneous lesions of cutaneovisceral angiomas (CAT) leading to misdiagnosis of immune thrombocytopenia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2017; 39 (4): e236–9. DOI: 10.1097/MPH.0000000000000800
- Shakir A.K., Yu Z., Altaf M.A. Long-term complications and management of gastrointestinal bleeding in multifocal lymphangioendotheliomatosis. *J Pediatr Hematol Oncol* 2019; 41 (8): e534–7. DOI: 10.1097/MPH.0000000000001324
- Esparza E.M., Deutsch G., Stancescu L., Weinberger E., Brandling-Bennett H.A., Sidbury R. Multifocal lymphangioendotheliomatosis with thrombocytopenia: phenotypic variant and course with propranolol, corticosteroids, and aminocaproic acid. *J Am Acad Dermatol* 2012; 67 (1): e62–4. DOI: 10.1016/j.jaad.2011.08.020
- Peña Merino L., Lopez Almaraz R., Fernandez de Larrinoa A., Rubio Lombrana M., Gonzalez-Hermosa M.R. Multifocal lymphangioendotheliomatosis without thrombocytopenia or clinical signs of systemic bleeding. *Pediatr Dermatol* 2019; 36 (6): 965–6. DOI: 10.1111/pde.13959
- Khamaysi Z., Bergman R. Multifocal congenital lymphangioendotheliomatosis without gastrointestinal bleeding and/or thrombocytopenia. *Am J Dermatopathol* 2010; 32 (8): 804–8. DOI: 10.1097/DAD.0b013e3181d1df100



10. Alexander-Sefre F., Singh N., Ayhan A., Salveson H.B., Wilbanks G., Jacobs I.J. Detection of tumour lymphovascular space invasion using dual cytokeratin and CD31 immunohistochemistry. *J Clin Pathol* 2003; 56 (10): 786–8. DOI: 10.1136/jcp.56.10.786
11. Steffee C.H., Iskandar S.S. Intravascular papillary endothelial hyperplasia in a thrombosed renal allograft vein. *Hum Pathol* 1996; 27 (9): 986–9. DOI: 10.1016/s0046-8177(96)90230-0
12. Hornick J.L., Fletcher C.D. Intraabdominal cystic lymphangiomas obscured by marked superimposed reactive changes: clinicopathological analysis of a series. *Hum Pathol* 2005; 36 (4): 426–32. DOI: 10.1016/j.humpath.2005.02.007
13. Glick Z.R., Frieden I.J., Garzon M.C., Mully T.W., Drolet B.A. Diffuse neonatal hemangiomatosis: an evidence-based review of case reports in the literature. *J Am Acad Dermatol* 2012; 67 (5): 898–903. DOI: 10.1016/j.jaad.2012.01.018
14. Metry D.W., Hebert A.A. Benign Cutaneous Vascular Tumors of Infancy: When to Worry, What to Do. *Arch Dermatol* 2000; 136 (7): 905–14. DOI: 10.1001/archderm.136.7.905
15. Boente M. del C., Cordisco M.R., Frontini M.D., Asial R.A. Blue Rubber Bleb Nevus (Bean Syndrome): Evolution of Four Cases and Clinical Response to Pharmacologic Agents. *Pediatr Dermatol* 1999; 16 (3): 222–7. DOI: 10.1046/j.1525-1470.1999.00065.x
16. Wood W.S., Dimmick J.E. Multiple infiltrating glomus tumors in children. *Cancer* 1977; 40 (4): 1680–5. DOI: 10.1002/1097-0142(197710)40:4 <1680::aid-cn-cr2820400443>3.0.co;2-k
17. Boon L.M., Brouillard P., Irrthum A., Karttunen L., Warman M.L., Rudolph R., et al. A Gene for Inherited Cutaneous Venous Anomalies (“Glomangiomas”) Localizes to Chromosome 1p21–22. *Am J Hum Genet* 1999; 65 (1): 125–33. DOI: 10.1086/302450
18. Kaplan R.P., Wang J.T., Amron D.M., Kaplan L. Maffucci's syndrome: Two case reports with a literature review. *J Am Acad Dermatol* 1993; 29 (5 pt 2): 894–9. DOI: 10.1016/0190-9622(93)70265-u
19. Peery W.H. Clinical spectrum of hereditary hemorrhagic telangiectasia (Osler–Weber–Rendu disease). *Am J Med* 1987; 82 (5): 989–97. DOI: 10.1016/0002-9343(87)90162-8
20. Braverman I.M., Keh A., Jacobson B.S. Ultrastructure and Three-Dimensional Organization of the Telangiectases of Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia. *J Invest Dermatol* 1990; 95 (4): 422–7. doi: 10.1111/1523-1747.ep12555569
21. Azuma H. Genetic and molecular pathogenesis of hereditary hemorrhagic telangiectasia. *J Med Invest* 2000; 47 (3–4): 81–90
22. Labauge P., Enjolras O., Bonerandi J.J., Laberge S., Dandurand M., Joujoux J.M., et al. An association between autosomal dominant cerebral cavernomas and a distinctive hyperkeratotic cutaneous vascular malformation in 4 families. *Ann Neurol* 1999; 45 (2): 250–4. DOI: 10.1002/1531-8249(199902)45:2<250::aid-ana17>3.0.co;2-v
23. Eerola I., Plate K.H., Spiegel R., Boon L.M., Mulliken J.B., Vikkula M. KRIT1 is mutated in hyperkeratotic cutaneous capillary-venous malformation associated with cerebral capillary malformation. *Hum Mol Genet* 2000; 9 (9): 1351–5. DOI: 10.1093/hmg/9.9.1351
24. Calvert J.T., Riney T.J., Kontos C.D., Cha E.H., Prieto V.G., Shea C.R., et al. Allelic and locus heterogeneity in inherited venous malformations. *Hum Mol Genet* 1999; 8 (7): 1279–89. DOI: 10.1093/hmg/8.7.1279
25. Vikkula M., Boon L.M., Carraway K.L., Calvert J.T., Diamonti A.J., Goumnerov B., et al. Vascular Dysmorphogenesis Caused by an Activating Mutation in the Receptor Tyrosine Kinase TIE2. *Cell* 1996; 87 (7): 1181–90. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81814-0
26. Droitcourt C., Boccara O., Fraïtag S., Favrais G., Dupuy A. Multifocal lymphangioendotheliomatosis with thrombocytopenia: clinical features and response to sirolimus. *Pediatrics* 2015; 136 (2): e517–22. DOI: 10.1542/peds.2014-2410
27. Prasad V., Fishman S.J., Mulliken J.B., et al. Cutaneovisceral angiomas with thrombocytopenia. *Pediatr Dev Pathol* 2005; 8(4): 407–19. DOI: 10.1007/s10024-005-1124-2
28. Yang C.H., Zhou S., Alexopoulos S., Kerkar N. Orthotopic liver transplant for multifocal lymphangioendotheliomatosis with thrombocytopenia. *Pediatr Transplant* 2016; 20 (3): 456–9. DOI: 10.1111/ptr.12696
29. Piggott K.D., Riedel P.A., Baron H.I. Multifocal lymphangioendotheliomatosis with thrombocytopenia: a rare cause of gastrointestinal bleeding in the newborn period. *Pediatrics* 2006; 117 (4): e810–3. DOI: 10.1542/peds.2005-1936
30. Smith A.R., Hennessy J.M., Kurth M.A., Nelson S.C. Reversible skeletal changes after treatment with bevacizumab in a child with cutaneovisceral angiomas with thrombocytopenia syndrome. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 51 (3): 418–20. DOI: 10.1002/pbc.21597
31. Yeung J., Somers G., Viero S., Pope E. Multifocal lymphangioendotheliomatosis with thrombocytopenia. *J Am Acad Dermatol* 2006; 54 (5 Suppl): 214–7. DOI: 10.1016/j.jaad.2005.07.029
32. Maronn M., Catrine K., North P., Browning M.B., Kerschner J.E., Noel R., Drolet B.A., Kelly M. Expanding the phenotype of multifocal lymphangioendotheliomatosis with thrombocytopenia. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 52 (4): 531–4. DOI: 10.1002/pbc.21766
33. Adams D.M., Trenor C.C., Hammill A.M., Vinks A.A., Patel M.N., Chaudry G., et al. Efficacy and safety of sirolimus in the treatment of complicated vascular anomalies. *Pediatrics* 2016; 137 (2): e20153257. DOI: 10.1542/peds.2015-3257
34. Clark A.B., Chandrasekar I., Nickleson J. Novel route of sirolimus administration in a neonate. *J Pharm Pract* 2018; 31 (2): 167–8. DOI: 10.1177/0897190017705811
35. Lan el A., Torres Huamani A.N., Feli  A., Sala M.J., Alvarez M., Cervini A.B. Multifocal lymphangioendotheliomatosis with thrombocytopenia: presentation of two cases treated with sirolimus. *Pediatr Dermatol* 2016; 33 (4): e235–9. DOI: 10.1111/pde.12879
36. Kambouchner M., Bernaudin J.F. Intralobular pulmonary lymphatic distribution in normal human lung using D2-40 antipodoplanin immunostaining. *J Histochem Cytochem* 2009; 57 (7): 643–8. DOI: 10.1369/jhc.2009.953067



© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ  
им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России  
Поступила 01.09.2022  
Принята к печати 21.09.2022

DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-100-114

# Острый лимфобластный лейкоз с транслокацией t(17;19): надежда появилась! Описание случая мультимодальной иммунотерапии у ребенка 3 лет с рефрактерным течением заболевания

Д.В. Литвинов, И.П. Тесаков, Л.Н. Шелихова, Л.А. Хачатрян, Е.А. Зеркаленкова, Ю.В. Ольшанская, А.Ю. Комков, А.М. Попов, Е.В. Михайлова, А.Н. Ремизов, Н.В. Мякова, Ю.В. Румянцева, А.И. Карачунский

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

## Контактная информация:

Литвинов Дмитрий Витальевич,  
главный врач ФГБУ «НМИЦ ДГОИ  
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России  
Адрес: 117997, Москва,  
ул. Саморы Машела, 1  
E-mail: dmitry.litvinov@fccho-moscow.ru

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) с транслокацией t(17;19)(q21-q22;p13) *TCF3::HLF* (E2A::HLF) составляет не более 1% острых лейкозов из В-клеток-предшественников у детей и с самого момента описания относится всеми исследователями к группе высокого риска. Заболевание в большинстве случаев имеет уникальную клиническую презентацию с развитием синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания и гиперкальциемии, не характерных для других вариантов ОЛЛ из В-линейных клеток-предшественников. Данная форма чаще всего поражает детей и характеризуется экстремально плохим прогнозом даже при условии использования интенсивной химиотерапии и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) в первой ремиссии. В последнее десятилетие получены новые данные, позволившие расшифровать некоторые механизмы лейкемогенеза при этой форме транслокации и приблизиться к пониманию причин высокой рефрактерности заболевания к применяемым химиопрепаратам. Наряду с сообщениями о возможной эффективности при данном варианте ОЛЛ ингибитора BCL-2 (венетоклакс) и аврора-киназы А (алисертиб) основные надежды связываются с применением современных схем клеточной иммунотерапии (различные варианты CAR-T) и моноклональных препаратов против антигенов опухолевых клеток CD19 и CD22 (блинатумомаб и инотузумаб озогамидин). До настоящего времени нет данных прямых сравнений эффективности этих методов между собой и общепринятого консенсуса оптимальной терапии. Неясно также, смогут ли эти методы заменить собой ТГСК или способны лишь увеличить безрецидивную выживаемость после нее. В настоящей работе мы приводим обзор литературных данных и собственное клиническое наблюдение мальчика 3 лет с данной формой лейкемии, не ответившего на 4-компонентную терапию индукции по протоколу ALL-MB 2015 и получившего терапию аутологичными CAR-T-лимфоцитами, специфичными к антигену CD19, с достижением первой МОБ (минимальная остаточная болезнь)-негативной ремиссии, сохранявшейся 11 мес, последующим МОБ-рецидивом с неуспешной попыткой терапии CD19-/CD22-специфичными аутологичными CAR-T-лимфоцитами с прогрессией заболевания до развернутого изолированного костномозгового рецидива, реиндукцией второй МОБ-негативной ремиссии на фоне применения инотузумаб озогамидина с последующим проведением аллогенной родственной ТГСК с сохранением полной молекулярной ремиссии в течение 16 мес после нее. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

**Ключевые слова:** острый лимфобластный лейкоз, дети, высокий риск, t(17;19)(q21-q22;p13), *TCF3::HLF*, клеточная терапия, протокол ALL-MB 2015, CAR-T-терапия

Литвинов Д.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022; 21 (3): 100–114. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-100-114

© 2022 by «D. Rogachev NMRCPhOI»

Received 01.09.2022  
Accepted 21.09.2022

## Acute lymphoblastic leukemia with the t(17;19) translocation: hope has appeared! Multimodal immunotherapy in a 3-year-old child with refractory disease: a case report

D.V. Litvinov, I.P. Tesakov, L.N. Shelikhova, L.A. Khachatryan, E.A. Zerkalenskova, Yu.V. Olshanskaya, A.Yu. Komkov, A.M. Popov, E.V. Mikhaylova, A.N. Remizov, N.V. Myakova, Yu.V. Rumyantseva, A.I. Karachunskiy

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

## Correspondence:

Dmitry V. Litvinov,  
Chief Physician of the Dmitry Rogachev  
National Medical Research Center of Pediatric  
Hematology, Oncology and Immunology,  
Ministry of Healthcare  
of the Russian Federation  
Address: 1 Samory Mashela St.,  
117997, Moscow, Russia  
E-mail: dmitry.litvinov@fccho-moscow.ru

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) with translocation t(17;19)(q21-q22;p13) *TCF3::HLF* (E2A::HLF) accounts for less than 1% of childhood B-lineage ALL. Since the first description, patients with this type of ALL are stratified into high-risk group. The disease often has a unique clinical presentation with disseminated intravascular coagulation and hypercalcemia, that are uncommon in other types of B-lineage ALL. This type of ALL is characterized by an extremely poor prognosis despite intensive treatment and hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in the first remission. In the last decade, some new data on the mechanisms of leukemogenesis in this type of ALL made it possible to come closer to understanding the reasons for the high refractoriness to chemotherapeutic agents. Along with the reports on the possible effectiveness of the BCL-2 (venetoclax) and Aurora kinase A (alisertib) inhibitors in this type of ALL, cellular immunotherapy (various chimeric antigen receptor (CAR)-T cell constructs), anti-CD19 (blinatumomab) and anti-CD22 (inotuzumab ozogamicin) monoclonal antibodies appear promising in the treatment of this disease. To date, there are neither published data on direct comparisons of the effectiveness of these

methods nor specific recommended therapy protocols for these patients. It is also unclear if the new therapeutic approaches can completely replace HSCT or they only increase relapse-free survival after it. Here, we review the data on this translocation published in the medical literature and present a case report of a 3-year-old boy with this type of leukemia, who did not respond to four-component induction therapy according to the ALL-MB 2015 Protocol and received anti-CD19 CAR-T therapy with the achievement of the first MRD (minimal residual disease)-negative remission, which lasted 11 months. After MRD-relapse and unsuccessful attempt at therapy with autologous CD19/CD22 CAR-T cells, the patient developed an extended isolated bone marrow relapse. He achieved the second MRD-negative remission after reinduction therapy with inotuzumab ozogomycin and received allogeneic HSCT from a related donor. At the time of writing, the patient is in complete molecular remission for 16 months after transplantation. The patient's parents have consented to the use of de-identified clinical information and photos of the patient in scientific research and publications.

**Key words:** acute lymphoblastic leukemia, children, high risk, t(17;19)(q21-q22;p13), TCF3::HLF, cell therapy, ALL-MB 2015 protocol, CAR-T-therapy

Litvinov D.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (3): 100–114.  
DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-100-114

**О**стрый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) является самым частым злокачественным заболеванием детского возраста [1]. Несмотря на существенный прогресс в улучшении результатов протоколов терапии ОЛЛ, достигнутый за последние десятилетия, определение оптимальной стратегии лечения пациентов из группы высокого риска и на сегодняшний день может оставаться непростой задачей для врача-гематолога.

Различные цитогенетические аномалии могут быть обнаружены примерно у половины пациентов с ОЛЛ [2]. На сегодняшний день накоплено достаточно данных о том, что некоторые из них связаны с неблагоприятным клиническим прогнозом [3]. Так, известно, что наличие гипоплоидии, транслокаций t(4;11) и t(9;22) и ряда других аномалий ассоциировано с высоким риском рецидива заболевания [2]. В современных протоколах лечения ОЛЛ пациентов с этими генетическими вариантами, как правило, относят к группам высокого риска, что предусматривает более интенсивную терапию и/или аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) [4].

Редкая транслокация t(17;19), наблюдаемая менее чем у 1% пациентов с ОЛЛ из В-клеток-предшественников (ВП-ОЛЛ), ранее также была идентифицирована в качестве предиктора неблагоприятного прогноза. Сообщения о патогенезе и оптимальной тактике лечения данной формы ОЛЛ в мировой и отечественной литературе пока немногочисленны.

Особенности клинической презентации данного варианта ОЛЛ, его редкость и крайне агрессивное течение делают актуальными публикации случаев успешного лечения. В настоящем сообщении мы приводим собственное наблюдение больного ОЛЛ с транслокацией (17;19) и краткий обзор литературы. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

## КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Заболевание у мальчика 3 лет, не имевшего в семейном анамнезе онкологических заболеваний и

считавшегося практически здоровым до этого, дебютировало с постепенно нарастающей боли в руке. В первичном общем анализе крови патологии не обнаружено. Спустя 2 нед от дебюта первых клинических проявлений отмечено развитие диареи, расцененной как проявление острой кишечной инфекции. Постепенно нарастали боли во всех конечностях и слабость. По данным рентгенограммы конечностей – без патологии, однако в общем анализе крови отмечены тромбоцитопения ( $22 \times 10^9/\text{л}$ ), анемия (гемоглобин – 88 г/л), в лейкоцитарной формуле (лейкоциты  $10 \times 10^9/\text{л}$ ) – без патологии. Выполнена компьютерная томография (КТ) костей скелета, на которой выявлены множественные остеолитические очаги. Ребенок был госпитализирован в онкодиспансер, где в контрольном анализе крови выявлены бластные клетки (8%) на фоне сохраняющихся анемии и тромбоцитопении. Через 1 мес от дебюта заболевания ребенок был госпитализирован в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева для дальнейшего обследования и лечения.

При поступлении: выраженный болевой синдром в костях, бледность, геморрагический синдром, представленный экхимозами и умеренно выраженной петехиальной сыпью. Отмечается лимфаденопатия (пальпируются все группы периферических лимфатических узлов: до 1–1,5 см в диаметре, безболезненные, мягко-эластической консистенции). Гемодинамические показатели – в пределах возрастной нормы, со стороны внутренних органов – без патологии.

### Результаты инициального обследования

Результаты инициального обследования представлены также в *таблице 1*.

- Ликворограмма: цитоз –  $0,4/\text{мм}^3$ , белок –  $0,557 \text{ г/л}$ , глюкоза –  $3,19 \text{ ммоль/л}$ , бластных клеток нет.
- Миелограмма: пунктаты из 1 и 2 точек обеднены миелокариоцитами, тотально инфильтрированы мономорфной популяцией анаплазированных бластных клеток L2-морфологии. Ростки нормального кроветворения в костном мозге угнетены.

Таблица 1

Результаты инициального лабораторного обследования пациента Р.

Table 1

The patient's R. initial laboratory testing results

| Показатель<br>Parameter                                                                         | Результат<br>Test result                                                                                                                                                                                                                                                              | Нормальные значения<br>Normal range |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$<br>WBC count, $\times 10^9/\text{L}$                          | 7,9                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 5,0–12,0                            |
| Гемоглобин, г/л<br>Hemoglobin, g/L                                                              | 102                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 110–140                             |
| Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$<br>Platelet count, $\times 10^9/\text{L}$                    | 119                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 160–390                             |
| Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$<br>Neutrophil count, $\times 10^9/\text{L}$                  | 2,5                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 2,3–5,7                             |
| Лейкоцитарная формула<br>WBC differential                                                       | Бласты – 11%, миелоциты – 1%, сегментоядерные нейтрофилы – 1%, палочкоядерные нейтрофилы – 31%, моноциты – 3%, базофилы – 1%, лимфоциты – 52%<br>Blasts – 11%, myelocytes – 1%, segmented neutrophils – 1%, band neutrophils – 31%, monocytes – 3%, basophils – 1%, lymphocytes – 52% | –                                   |
| Калий, ммоль/л<br>Potassium, mmol/L                                                             | 2,5                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 3,5–5,1                             |
| Кальций общий, ммоль/л<br>Total calcium, mmol/L                                                 | 4,2                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 2,2–2,7                             |
| Кальций ионизированный, ммоль/л<br>Ionized calcium, mmol/L                                      | 1,8                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 1,1–1,3                             |
| Фосфор неорганический, ммоль/л<br>Inorganic phosphorus, mmol/L                                  | 0,3                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 1,0–1,9                             |
| Магний, ммоль/л<br>Magnesium, mmol/L                                                            | 0,3                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 0,7–0,9                             |
| Креатинин, мкмоль/л<br>Creatinine, $\mu\text{mol/L}$                                            | 71                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 0–106                               |
| Мочевина, ммоль/л<br>Urea, mmol/L                                                               | 10,1                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 2,9–7,5                             |
| С-реактивный белок, мг/л<br>C reactive protein, mg/L                                            | 51,5                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 0,0–5,0                             |
| Цистатин С, мг/л<br>Cystatin C, mg/L                                                            | 1,7                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 0,5–1,0                             |
| Фибриноген по Клауссу, г/л<br>Fibrinogen (Clauss), g/L                                          | 2,1                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 2,0–3,93                            |
| Протромбин (активность по Квику), %<br>Prothrombin (Quick's value), %                           | 60                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 70–120                              |
| Протромбиновое время, с<br>Prothrombin time, s                                                  | 16,3                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 9,4–13,7                            |
| Активированное частичное тромбопластиновое время, с<br>Activated partial thromboplastin time, s | > 200                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 25,1–36,5                           |
| Тромбиновое время, с<br>Thrombin time, s                                                        | > 200                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 15,8–24,9                           |
| Д-Димер, нг/мл<br>D-Dimer, ng/mL                                                                | 2006                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 0–243                               |
| Антитромбин III, %<br>Antithrombin III, %                                                       | 107                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 83–128                              |
| Антигемофильный глобулин А (фактор VIII), %<br>Antihemophilic globulin A (factor VIII), %       | 209                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 50–150                              |
| Антигемофильный глобулин В (фактор IX), %<br>Antihemophilic globulin B (factor IX), %           | 153                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 50–150                              |

• Иммунофенотипирование костного мозга методом многоцветной проточной цитометрии: иммунофенотип бластной популяции соответствует ОЛЛ, VII-вариант с коэкспрессией CD13, CD15 и CD33 (рисунки 1).

• Цитогенетическое исследование – при стандартном кариотипировании обнаружен кариотип 46,XY, t(17;19)(q22;p13) (рисунки 2). При исследовании методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) подтверждена перестройка гена *TCF3* (*E2A*). При исследовании методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией обнаружена экспрессия химерного транскрипта *TCF3::HLF*.

Прямое секвенирование по Сэнгеру показало наличие у пациента химерного транскрипта типа 1, т. е. слияние экзона 16 гена *TCF3* и экзона 4 гена *HLF*.

• КТ придаточных пазух носа, органов грудной клетки и брюшной полости/малого таза: диффузные участки разрежения костной структуры (рисунки 3). Очаговых и инфильтративных изменений не выявлено. Признаки течения воспалительного процесса в верхнечелюстной пазухе слева. Аденоидные вегетации II степени.

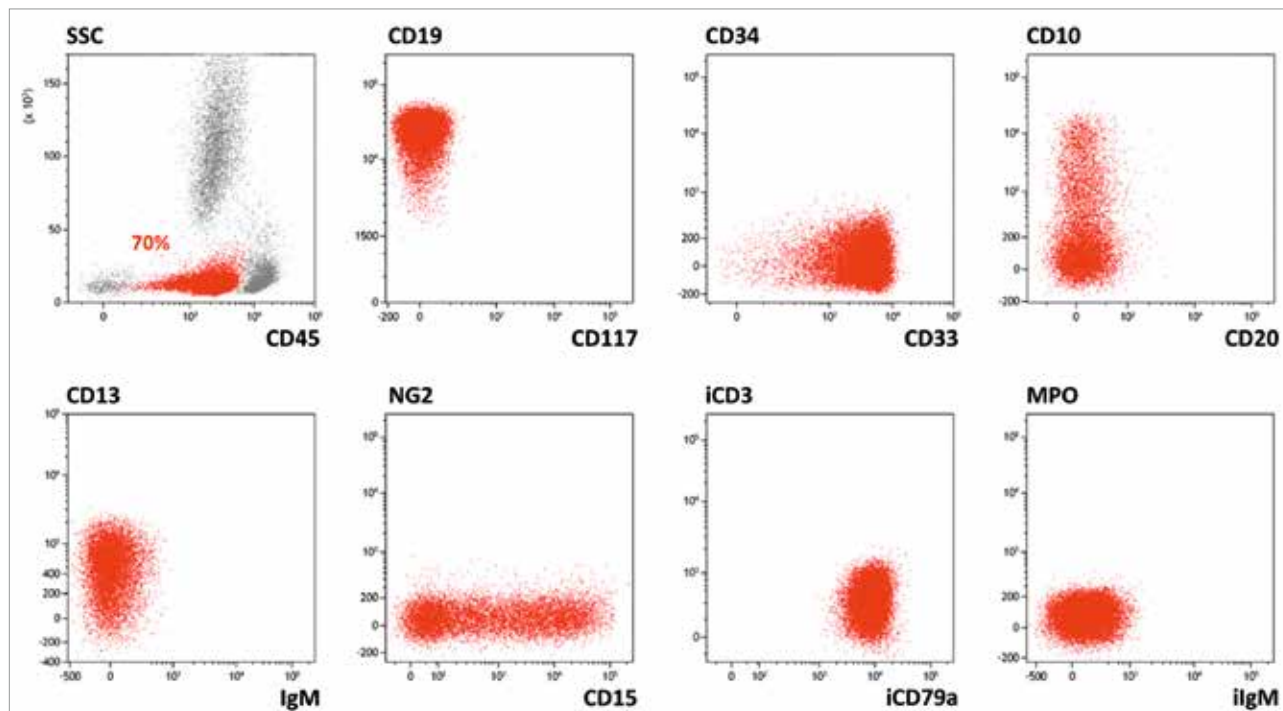
• Магнитно-резонансная томография головного мозга: выявлено патологическое образование лобной и основной костей. Диффузные изменения

**Рисунок 1**

Результаты первичного иммунофенотипирования костного мозга пациента Р. Опухолевые клетки (на точечных графиках показаны красным) характеризуются яркой экспрессией CD19, CD33, внутриклеточного (i) CD79a и слабой экспрессией CD45, CD10, CD15, CD13. Нормальные клетки костного мозга на графике экспрессии CD45 и значения параметра бокового светорассеяния (side-scatter, SSC) показаны серым

**Figure 1**

The results of initial immunophenotyping of the patient's R. bone marrow cells. Tumor cells (highlighted red in the dot plots) are characterized by the strong expression of CD19, CD33, and intracellular (i) CD79a and the weak expression of CD45, CD10, CD15, CD13. Normal bone marrow cells on the dot plot displaying CD45 expression and the values of side-scatter (SSC) are shown in gray

**Рисунок 2**

Транслокация t(17;19)(q22;p13)

**Figure 2**

The t(17;19)(q22;p13) translocation



костей черепа (mts?). Тотальное заполнение патологическим содержимым левой верхнечелюстной пазухи. Признаков объемного или очагового поражения головного мозга не выявлено (рисунок 4).

- Ультразвуковое исследование органов брюшной полости и мочевыделительной системы: признаки диффузных изменений паренхимы печени, поджелудочной железы и обеих почек, гепатомегалии, мелких конкрементов желчного пузыря.

Таким образом, пациенту поставлен клинический диагноз: ОЛЛ, ВII-вариант с коэкспрессией CD13, CD15, CD33, t(17;19), ЦНС1, первый острый период.

**Терапия индукции ремиссии**

Пациенту инициирована специфическая терапия по протоколу ALL-MB 2015, терапевтическая группа А. Терапия индукции была проведена в полном объеме.

На фоне дебюта заболевания и первой половины индукционной терапии отмечались выраженные электролитные нарушения, купированные сопроводительной терапией: гиперкальциемия до 4,22 ммоль/л, сопровождавшаяся диспептическими симптомами (тошнота, рвота), вторичной артериальной гипертензией; гипокалиемия; гипофосфатемия; гипомagneмия. Отмечалась выраженная коагулопатия потребления (купировалась к 25-му дню индукции), сопровождавшаяся гипофибриногенемией (минимальное снижение до 1 г/л), повышением Д-димера до 11 000 нг/мл (таблица 1). Из инфекционных осложнений в ходе индукции отмечен левосторонний гайморит, купированный антибактериальной терапией.

Ответ на терапию индукции:

- на 8-е сутки бластные клетки периферической крови составили 195/мкл;

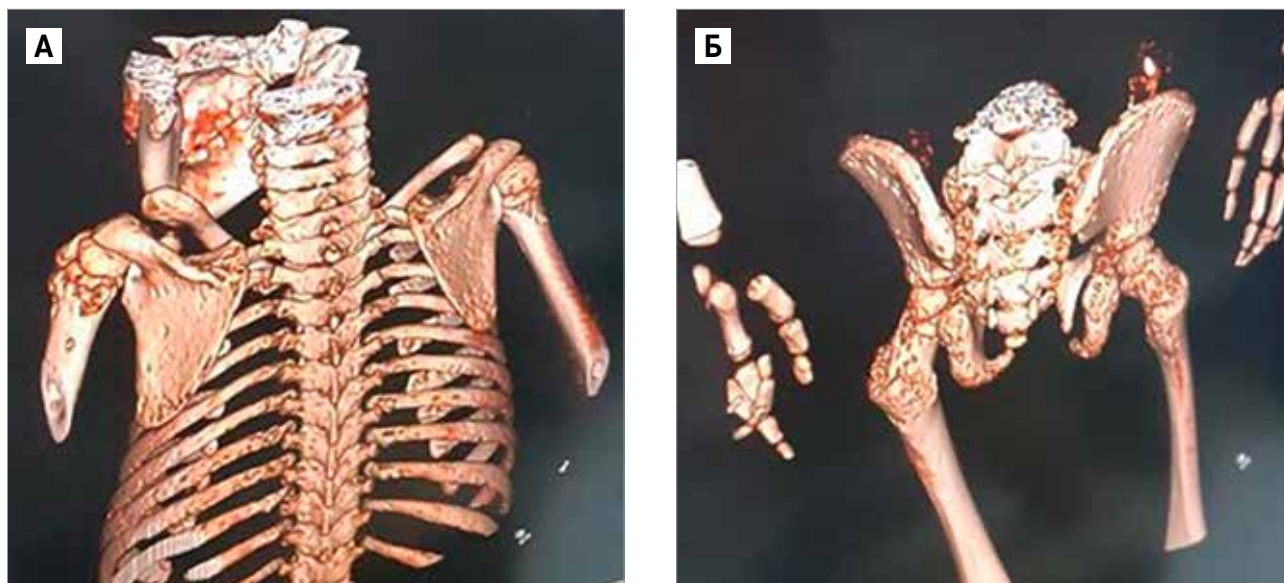


**Рисунок 3**

КТ органов грудной клетки и брюшной полости, 3D-реконструкция. Визуализируются множественные диффузные очаги костной деструкции

**Figure 3**

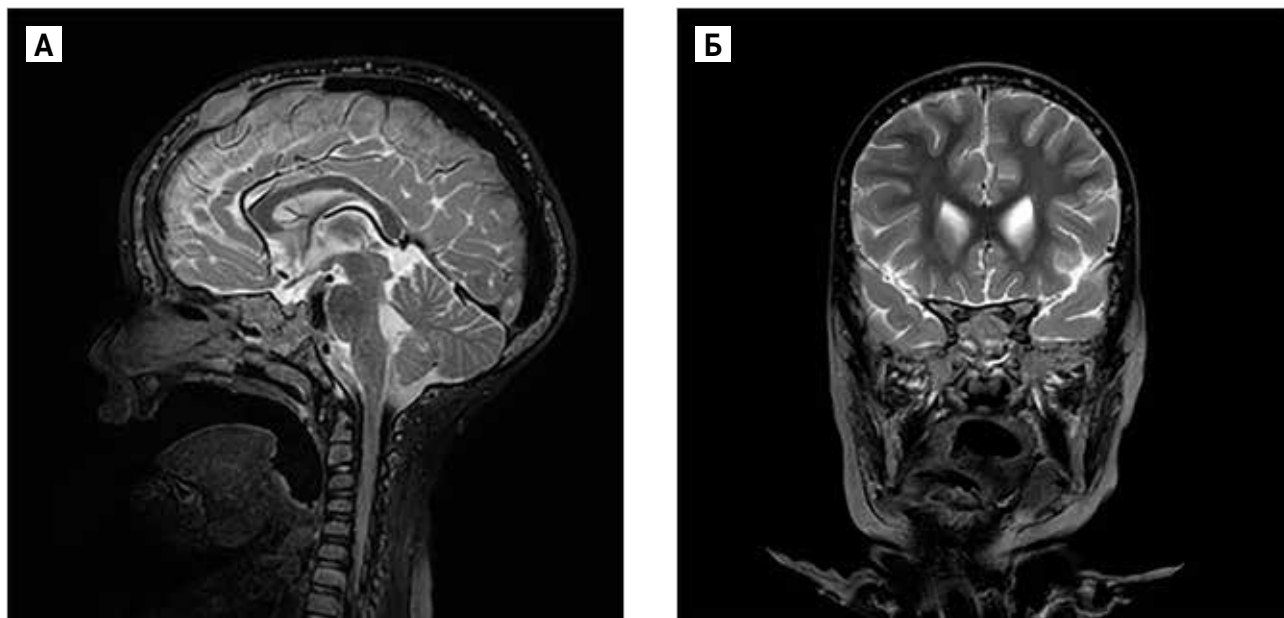
A chest and abdominal computed tomography (a 3D reconstruction image) showing multiple diffuse foci of bone destruction

**Рисунок 4**

Магнитно-резонансная томограмма черепа в саггитальной и аксиллярной проекциях в режиме T2-взвешенных изображений с подавлением жира. Визуализируется поражение костей основания и свода черепа с массивным опухолевым образованием в лобной и основной костях

**Figure 4**

T2-weighted fat-suppressed magnetic resonance imaging of the skull in the sagittal and axillary planes. There is an involvement of the bones of the skull base and vault with a massive tumor visualized in the frontal and sphenoid bones



– на 15-й день в миелограмме анаплазированные бластные клетки составили 77%, по результатам иммунофенотипирования – 38%;

– на 36-й день в общем анализе крови: лейкоциты  $9,3 \times 10^9/\text{л}$  (бластные клетки 5%, миелоциты 4%, метамиелоциты 2%, палочкоядерные нейтрофилы 7%, сегментоядерные нейтрофилы 55%, лимфоциты 18%, моноциты 9%), гемоглобин 87 г/л, тромбо-

циты  $189 \times 10^9/\text{л}$ . В миелограмме анаплазированные бластные клетки составили 35% и 45% по точкам, по данным иммунофенотипирования – 56%. Экспрессия CD19 на поверхности бластных клеток 100%.

Таким образом, в результате проведенной терапии индукции по протоколу ALL-MB 2015 клинико-гематологическая ремиссия не была достигнута. Учитывая плохой прогноз заболевания, было принято решение



о выполнении клеточной терапии аутологичными CAR-T-лимфоцитами, специфичными к антигену CD19. Проведен аферез аутологичных лимфоцитов с последующим процессингом и изготовлением клеточного продукта.

### Клеточная терапия

После предварительной лимфодеплеции флударабином и циклофосфамидом пациенту введено  $3 \times 10^6$ /кг анти-CD19-CAR-T-лимфоцитов.

Динамика основных лабораторных показателей в ходе клеточной терапии представлена в *таблице 2*. На +14-е сутки от инфузии констатируется персистенция CAR-T-лимфоцитов и достигнута первая клинко-гематологическая и молекулярная ремиссия, подтвержденная на +28-е сутки. CAR-T-терапия осложнилась развитием синдрома выброса цитокинов (CRS) III степени, синдромом нейротоксичности, ассоциированной с иммунными эффекторными клетками (ICANS) IV степени (токсическая энцефалопатия, судорожный синдром, тонико-клонические судороги), которые были купированы сопроводительной терапией (дексаметазон, тоцилизумаб, симптоматическая терапия, включая противосудорожные препараты).

Мониторинг минимальной остаточной болезни (МОБ) проводился методом многоцветной проточной цитометрии согласно стандарту группы «Москва–Берлин» [5] с модификациями, необходимыми для эффективного определения МОБ в условиях проведения CD19-направленной терапии [6, 7]. Кинетика МОБ на всем протяжении терапии показана на *рисунке 5*.

Ребенку планировалось выполнение аллогенной ТГСК от HLA-совместимого родственного донора-сисба. Однако родители пациента письменно отказались от ее проведения.

При обследовании на +450-й день от CD19-CAR-T-терапии обнаружено появление МОБ в количестве 1,002% с потерей экспрессии на опухолевых клетках CD19 и сохранением CD22 на 100% клеток (*рисунок 6*). В дальнейшем опухолевые клетки всегда оставались CD19-негативными.

Пациент обсужден коллегиально, принято решение о целесообразности проведения анти-CD22-CAR-T-клеточной терапии. Для сохранения клинко-гематологической ремиссии к моменту начала анти-CD22-CAR-T-терапии было решено провести попытку сдерживающей химиотерапии: курс реиндукции + консолидации протокола ALL-MB 2015 (дексаметазон, винкристин, меркаптопурин, метотрексат, ПЭГ-аспарагиназа, люмбальные пункции с введением триплета).

При контрольном обследовании на +570-й день от первой CD19-CAR-T-терапии обнаружено нарастание

уровня МОБ до 2,794%, в связи с чем было решено начать терапию биспецифичными аутологичными анти-CD19-/CD22-CAR-T-лимфоцитами с предварительной лимфодеплецией в составе флударабина и циклофосфамида с профилактикой CRS тоцилизумабом в день введения аутолимфоцитов. В день 0 (на +580-й день от CD19-CAR-T) введен анти-CD19-/CD22-CAR-T-клеточный продукт в количестве  $0,1 \times 10^6$ /кг. Учитывая отсутствие признаков CRS, ICANS, на +8-е сутки введена вторая доза анти-CD19-/CD22-CAR-T-лимфоцитов в количестве  $0,9 \times 10^6$ /кг.

Динамика основных лабораторных показателей в ходе клеточной терапии представлена в *таблице 2*. За весь период наблюдения признаков токсичности не наблюдалось. Несмотря на персистенцию CD19-/CD22-CAR-T в крови, на +42-й день вновь отмечен рост МОБ (2,701%).

Учитывая рефрактерное течение заболевания, с +43-го дня от введения CD19-/CD22-CAR-T-клеток была начата полихимиотерапия по протоколу ОЛЛ-РЕЦ-2016 в составе блоков R1 и R2. При обследовании после второго блока полихимиотерапии по данным цитологического исследования на +92-й день от введения CD19-/CD22-CAR-T констатирован дальнейший рост уровня бластных клеток в костном мозге с развитием развернутого первого изолированного костномозгового рецидива.

В связи с рефрактерным течением заболевания принято решение о проведении терапии анти-CD22-моноклональным антителом-конъюгатом – инотузумабом озогамидином. Выполнено 3 внутривенных введения препарата: в 1-й день в дозе  $0,8 \text{ мг/м}^2$ , в 8-й и 15-й дни – в дозе  $0,5 \text{ мг/м}^2$ . Терапию перенес удовлетворительно, без признаков токсичности.

На +30-й день от первого введения анти-CD22-антител констатировано достижение второй клинко-гематологической и молекулярной ремиссии. Принято решение о проведении аллогенной ТГСК, согласие родителей на процедуру получено. До начала ТГСК проводилась сдерживающая химиотерапия в объеме 2-й фазы протокола I BFM (циклофосфамид, цитарабин, меркаптопурин). На +65-й день от первого введения инотузумаба озогамидина начато кондиционирование перед аллогенной ТГСК в составе тотального облучения тела в дозе 12 Гр с флударабином и этопозидом; миелоинфузия от полностью совместимого родственного донора (сисб) прошла без осложнений. Профилактика реакции «трансплантат против хозяина» проводилась абатацептом в день 0, циклоспорином с –1-х суток, микофенолата мофетиллом с +1-й суток в общепринятых режимах.

Приживление лейкоцитарного ростка трансплантата зафиксировано на +12-е сутки, мегакариоцитарного ростка на +23-и сутки.

Контроль статуса пациента на +30, +55, +69, +100, +360-е сутки от ТГСК: трансплантат функционирует, сохраняется полная клинико-лабораторная ремиссия заболевания, признаков реакции «трансплантат против хозяина» нет. На +360-е сутки конста-

тирована иммунореаконституция, позволившая начать ревакцинацию пациента. На момент настоящего сообщения пациент находится в ремиссии в течение 19 мес от введения инотузумаба озогамидина и 17 мес от ТГСК.

Таблица 2

Динамика лабораторных показателей на фоне лечения

Table 2

Changes in the laboratory parameters during treatment

| День от начала CAR-T-терапии<br>Day before/after CAR-T cell therapy            | Уровень CD3 <sup>+</sup> CD19CAR <sup>+</sup> в крови, %<br>The level of CD3 <sup>+</sup> CD19CAR <sup>+</sup> in blood, % | Уровень CD3 <sup>+</sup> CD19CAR <sup>+</sup> в крови, × 10 <sup>9</sup> /л<br>The level of CD3 <sup>+</sup> CD19CAR <sup>+</sup> in blood, × 10 <sup>9</sup> /L | Уровень CD4 <sup>+</sup> CD19CAR <sup>+</sup> в крови, × 10 <sup>9</sup> /л<br>The level of CD4 <sup>+</sup> CD19CAR <sup>+</sup> in blood, × 10 <sup>9</sup> /L | Уровень CD8 <sup>+</sup> CD19CAR <sup>+</sup> в крови, × 10 <sup>9</sup> /л<br>The level of CD8 <sup>+</sup> CD19CAR <sup>+</sup> in blood, × 10 <sup>9</sup> /L | Бласты в костном мозге, %<br>Blast cells in bone marrow, % | ИФТ МОВ в костном мозге*, %<br>Immunophenotype of MRD cells in bone marrow*, % | ПЦР МОВ TCF3::HLF<br>PCR-based MRD analysis TCF3::HLF |
|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| -15                                                                            | —                                                                                                                          | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | 45                                                         | 57,331 (CD19 – 100%, CD22 – 100%)                                              | Обнаружен<br>Detected                                 |
| Ауто-CD19-CAR-T<br>First auto CD19 CAR-T therapy                               |                                                                                                                            |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                  |                                                            |                                                                                |                                                       |
| 0                                                                              | —                                                                                                                          | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                          | —                                                                              | —                                                     |
| +3                                                                             | 0,2744                                                                                                                     | 0,00028                                                                                                                                                          | 0,00024                                                                                                                                                          | 0,00003                                                                                                                                                          | —                                                          | —                                                                              | —                                                     |
| +7                                                                             | 57,15                                                                                                                      | 1,29746                                                                                                                                                          | 0,04282                                                                                                                                                          | 1,25309                                                                                                                                                          | —                                                          | —                                                                              | —                                                     |
| +11                                                                            | 36,51                                                                                                                      | 0,62391                                                                                                                                                          | 0,0141                                                                                                                                                           | 0,5838                                                                                                                                                           | —                                                          | —                                                                              | —                                                     |
| +14                                                                            | 44,05                                                                                                                      | 1,06972                                                                                                                                                          | 0,04086                                                                                                                                                          | 1,02436                                                                                                                                                          | < 5                                                        | 0                                                                              | Не обнаружен<br>Not detected                          |
| +28                                                                            | 61,5                                                                                                                       | 1,04426                                                                                                                                                          | 0,03509                                                                                                                                                          | 0,98088                                                                                                                                                          | < 5                                                        | 0                                                                              | —                                                     |
| +90                                                                            | 45,56                                                                                                                      | 0,67426                                                                                                                                                          | 0,00904                                                                                                                                                          | 0,65248                                                                                                                                                          | < 5                                                        | 0                                                                              | Не обнаружен<br>Not detected                          |
| +180                                                                           | 20,46                                                                                                                      | 0,62787                                                                                                                                                          | 0,00571                                                                                                                                                          | 0,60708                                                                                                                                                          | < 5                                                        | 0                                                                              | Не обнаружен<br>Not detected                          |
| +210                                                                           | —                                                                                                                          | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | < 5                                                        | 0                                                                              | Не обнаружен<br>Not detected                          |
| +300                                                                           | 9,2                                                                                                                        | 0,3513                                                                                                                                                           | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | < 5                                                        | 0                                                                              | Не обнаружен<br>Not detected                          |
| +450                                                                           | 4,1                                                                                                                        | 0,139942                                                                                                                                                         | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | 5                                                          | 1,002 (CD19 – 0%, CD22 – 100%)                                                 | Обнаружен<br>Detected                                 |
| +570                                                                           | —                                                                                                                          | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | 5,2                                                        | 2,794                                                                          | Обнаружен<br>Detected                                 |
| Ауто-CD19-/CD22-CAR-T<br>Second auto CD19/22 CAR-T therapy                     |                                                                                                                            |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                  |                                                            |                                                                                |                                                       |
| +580/0                                                                         | —                                                                                                                          | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                          | —                                                                              | —                                                     |
| +587/+7                                                                        | 0,4                                                                                                                        | 0,001738                                                                                                                                                         | 0,000732                                                                                                                                                         | 0,000823                                                                                                                                                         | 2,5                                                        | 0,042                                                                          | —                                                     |
| +11                                                                            | 9,29                                                                                                                       | 0,076326                                                                                                                                                         | 0,001214                                                                                                                                                         | 0,068479                                                                                                                                                         | —                                                          | —                                                                              | —                                                     |
| +14                                                                            | 26,95                                                                                                                      | 0,313201                                                                                                                                                         | 0,002568                                                                                                                                                         | 0,293783                                                                                                                                                         | 0                                                          | 0,689                                                                          | Обнаружен<br>Detected                                 |
| +21                                                                            | 11,72                                                                                                                      | 0,10863                                                                                                                                                          | 0,000771                                                                                                                                                         | 0,105588                                                                                                                                                         | —                                                          | —                                                                              | —                                                     |
| +28                                                                            | 1,48                                                                                                                       | 0,009512                                                                                                                                                         | 0,009512                                                                                                                                                         | 0,008124                                                                                                                                                         | 1                                                          | 1,291                                                                          | Обнаружен<br>Detected                                 |
| +42                                                                            | —                                                                                                                          | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | 0                                                          | 2,701                                                                          | —                                                     |
| +70                                                                            | —                                                                                                                          | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | 5                                                          | 2,339                                                                          | Обнаружен<br>Detected                                 |
| +92                                                                            | —                                                                                                                          | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | 23                                                         | 7,321                                                                          | Обнаружен<br>Detected                                 |
| Анти-CD22 MAB (инотузумаб озогамидин)<br>Anti-CD22 mAb (inotuzumab ozogamicin) |                                                                                                                            |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                  |                                                            |                                                                                |                                                       |
| +95/0                                                                          | —                                                                                                                          | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                          | —                                                                              | —                                                     |
| +125/30                                                                        | —                                                                                                                          | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | < 5                                                        | 0                                                                              | Не обнаружен<br>Not detected                          |
| Аллогенная ТГСК<br>Allogeneic HSCT                                             |                                                                                                                            |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                  |                                                            |                                                                                |                                                       |
| +158/65/0                                                                      | —                                                                                                                          | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                          | —                                                                              | Не обнаружен<br>Not detected                          |
| +30                                                                            | —                                                                                                                          | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | < 5                                                        | 0                                                                              | Не обнаружен<br>Not detected                          |
| +132                                                                           | —                                                                                                                          | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | —                                                                                                                                                                | < 5                                                        | 0                                                                              | Не обнаружен<br>Not detected                          |

Примечание. ИФТ – иммунофенотип; ПЦР – полимеразная цепная реакция; \* – данные исследования МОВ в ликворе в таблице не представлены, во всех точках исследования патологических клеток обнаружено не было.

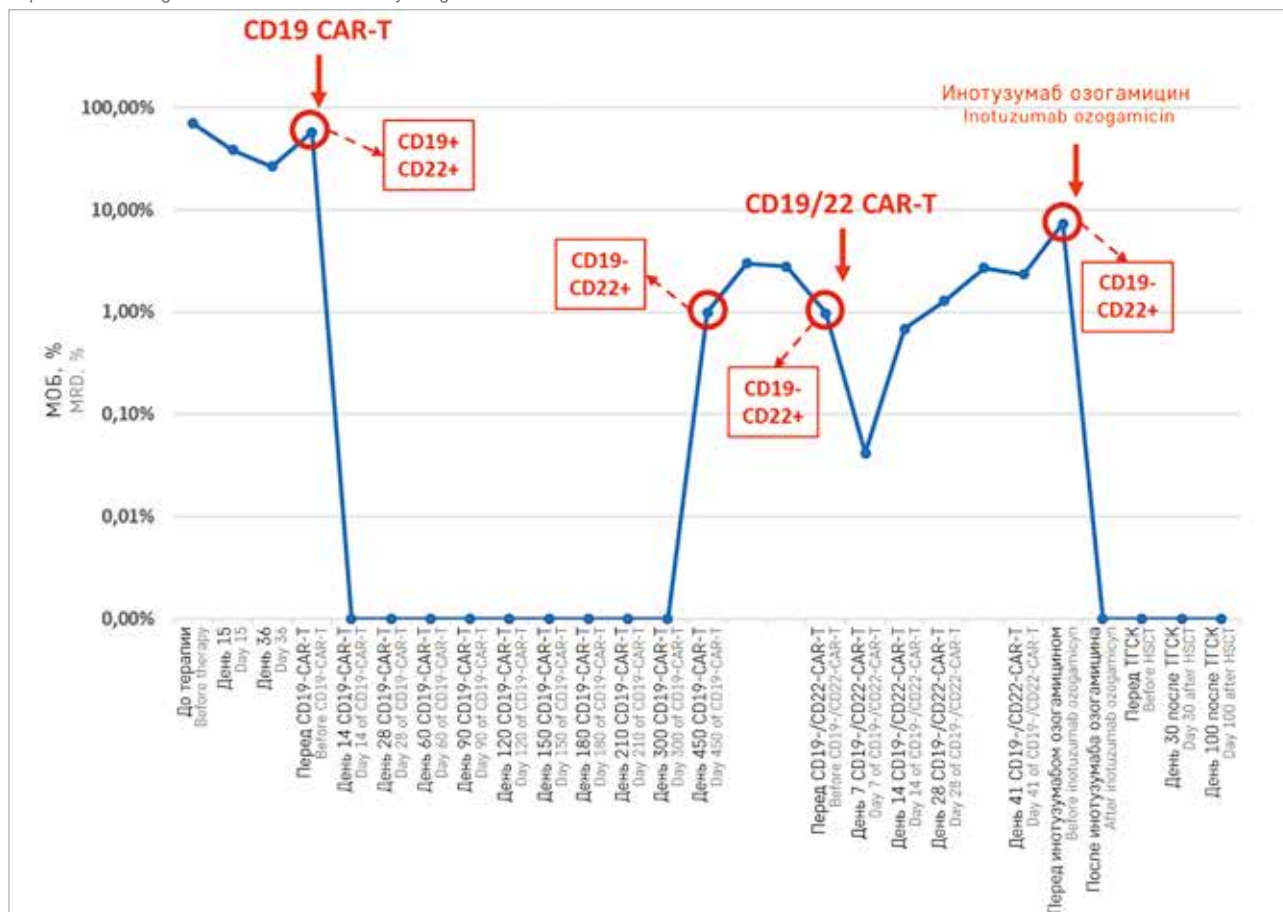
Note. PCR – polymerase chain reaction; MRD – minimal residual disease; \* – the results of MRD testing in CSF samples are not presented in the table since there were no blast cells in the samples collected from any time; HSCT – hematopoietic stem cell transplantation.

Рисунок 5

Кинетика элиминации опухолевых клеток в костном мозге пациента Р. по данным иммунофенотипирования. Уровень МОБ на разных этапах терапии показан синим, применение таргетных препаратов и тип терапии – красным, экспрессия таргетируемых молекул на ключевых этапах терапии – коричневым

Figure 5

The kinetics of tumor cell elimination in the patient's R. bone marrow revealed by immunophenotyping. The level of MRD at different stages of treatment is shown in blue, the use of target drugs and types of therapy are shown in red, the expression of targeted molecules at the key stages of treatment are shown in brown



## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Лейкозы с транслокацией t(17;19) значительно чаще наблюдаются в детском и подростковом возрасте и нередко ассоциированы с гиперкальциемией и развитием синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС) [2]. Точные молекулярные механизмы, лежащие в основе этих феноменов, на сегодняшний день до конца неизвестны, до 50% пациентов имеют дополнительные аномалии в бластных клетках. Транслокация t(17;19) связана с крайне плохим клиническим прогнозом даже при использовании интенсифицированных схем терапии. Резистентность опухолевых клеток к химиотерапевтическим агентам, как принято считать, обусловлена ингибированием механизмов апоптоза [8, 9].

### Химерный онкоген *TCF3-HLF* и его роль в патогенезе острого лимфобластного лейкоза

Генетический локус *TCF3* (*E2A*) располагается в хромосоме 19 и дает начало двум факторам

транскрипции – E12 и E47, которые образуются в результате альтернативного сплайсинга пре-мРНК. Продукты синтеза E12 и E47 содержат участки связывания с ДНК в областях промоторов/энхансеров генов иммуноглобулинов. Связываясь с регуляторными элементами и взаимодействуя (напрямую или опосредованно) с белковыми компонентами аппарата транскрипции, они контролируют скорость движения РНК-полимеразы II. *TCF3* широко экспрессируется в различных клетках человеческого организма, в частности он играет роль в созревании и дифференцировке В-лимфоцитов, принимая участие в регуляции процесса реаранжировки генов цепей иммуноглобулинов [10, 11].

Транслокация t(17;19) приводит к формированию онкогена *TCF3::HLF*, продуктом которого является химерный транскрипционный фактор, обладающий аномальной активностью. При образовании онкогена *TCF3::HLF* происходит слияние N-концевого трансактивационного домена *TCF3* с С-концевыми ДНК-связывающим доменом и доменом димеризации *HLF* (hepatic leukemia factor – печеночный фактор

**Рисунок 6**

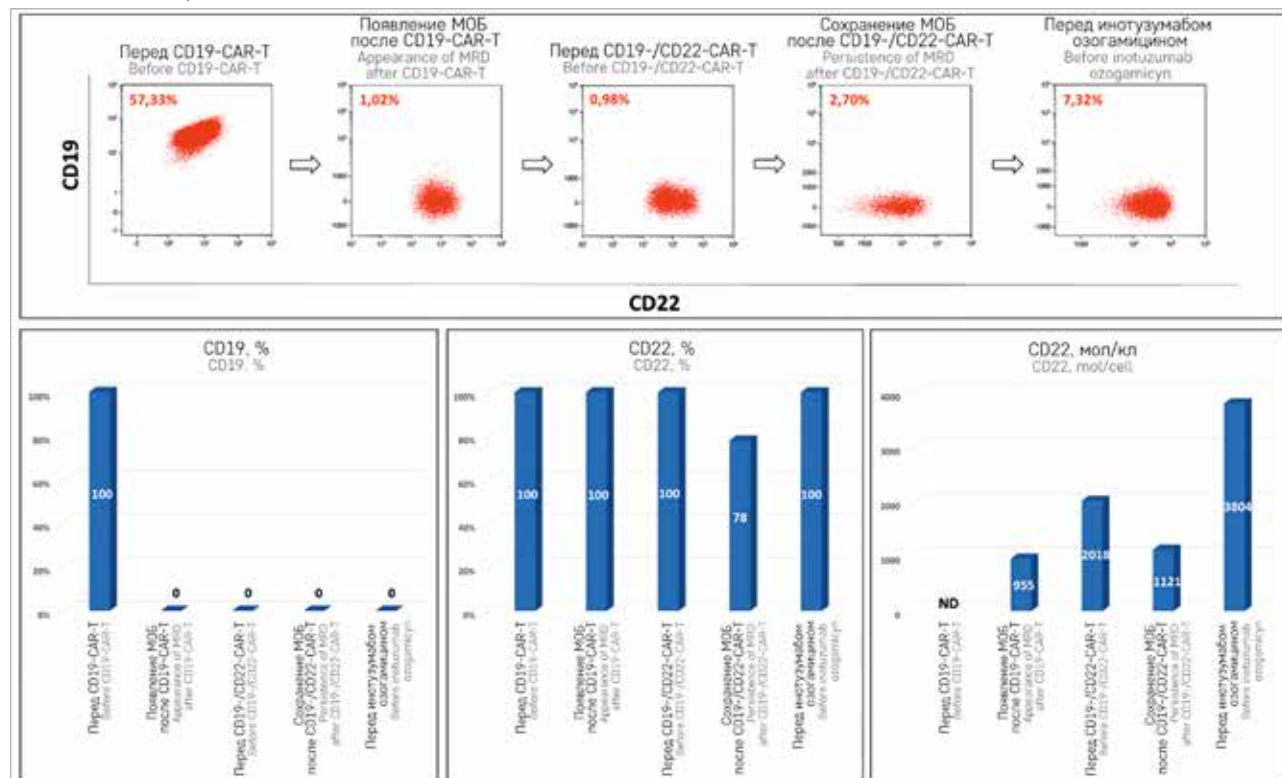
Изменение экспрессии таргетируемых антигенов (CD19 и CD22) опухолевыми клетками пациента Р. во время терапии

А – точечные графики экспрессии CD19/CD22, указано также процентное содержание опухолевых клеток в костном мозге; Б – изменение процентного содержания CD19-позитивных клеток; В – изменение процентного содержания CD22-позитивных клеток; Г – изменение плотности экспрессии CD22 (среднего количества молекул на клетке)

**Figure 6**

Changes in the expression of targeted antigens (CD19 and CD22) by tumor cells in the patient R. during therapy

А – dot plots displaying the expression of CD19/CD22 and the percentage of tumor cells in the bone marrow; Б – change in the percentage of CD19-positive cells; В – change in the percentage of CD22-positive cells; Г – change in the density expression of CD22 (an average number of molecules on a cell)



лейкемии) [8]. Таким образом, хромосомная транслокация помещает химерный онкоген под контроль промотора *TCF3*, который активен в лимфоидных клетках, тем самым приводя к экспрессии генов, подконтрольных *HLF* (рисунок 7) [1, 8, 12].

На сегодняшний день известны два различных варианта транслокации t(17;19). При транслокации I типа в образовании химерного гена участвуют экзон 16 гена *TCF3* и экзон 4 гена *HLF*, при транслокации II типа – экзон 15 гена *TCF3* и экзон 4 гена *HLF* (рисунок 8) [13]. Таким образом, химерные онкогены I и II типов содержат в себе одинаковый фрагмент гена *HLF*, но отличаются по длине фрагмента *TCF3*. Несмотря на структурные различия, химерные белки I и II типов функционально идентичны, обладают одинаковыми способностями к связыванию с ДНК и регуляции транскрипции [15]. В литературе есть сообщения о том, что у пациентов с транслокацией I типа чаще наблюдаются нарушения со стороны системы гемостаза, в частности развитие ДВС [8, 9]. Тем не менее ввиду редкости этих генетических вариантов данные об их клинических особенностях требуют уточнения на больших выборках пациентов.

Ген *HLF* в норме у человека экспрессируется в печени и ряде других тканей, но не экспрессируется в лимфоидных клетках. *HLF* человека является гомологом транскрипционного фактора CES-2 нематод, который в процессе развития *C. elegans* регулирует гибель специфической пары серотонинергических нейронов [16]. CES-2 индуцирует апоптоз путем подавления экспрессии *ses-1* – гена, ответственного за выживание клеток и подавляющего механизм программируемой клеточной гибели (рисунок 9А) [17].

В отличие от *CES-2*, выполняющего проапоптотическую функцию у нематод путем подавления экспрессии *ses-1*, у человека химерный онкоген *TCF3::HLF*, напротив, подавляет апоптоз путем стимуляции экспрессии *SLUG* (человеческого гомолога *ses-1*), в норме ответственного за защиту гемопоэтических клеток от апоптоза, индуцированного повреждением ДНК [17]. Это подтверждается данными о том, что экспрессия доминантно-негативной формы *TCF3::HLF* в клетках, несущих транслокацию t(17;19), подавляет функцию *TCF3-HLF* и приводит к p53-опосредованному апоптозу (рисунок 9Б, В) [16, 17].

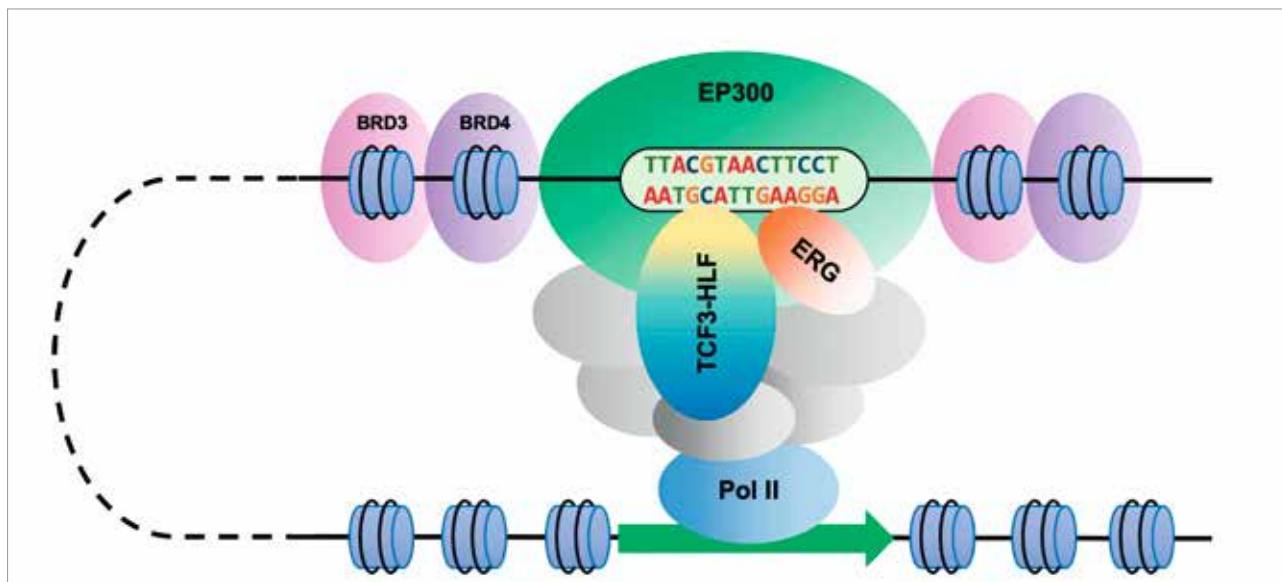
Механизм активности онкогена *TCF3::HLF* (адаптировано из [12], с изменениями)

Хромосомная транслокация t(17;19) помещает химерный онкоген *TCF3::HLF* под контроль промотора *TCF3*, что приводит к привлечению регуляторных элементов (в том числе гистонацетилабсценсиферы р300 (EP300), ERG и ряда других факторов транскрипции) и экспрессии генов, подконтрольных *HLF*. Pol II – полимераз II

Figure 7

The mechanism of leukemogenic activity of *TCF3::HLF* (adapted with changes from [12])

The mechanism of leukemogenic activity of *t(17;19)* (adapted with changes from [22])



**Рисунок 8**

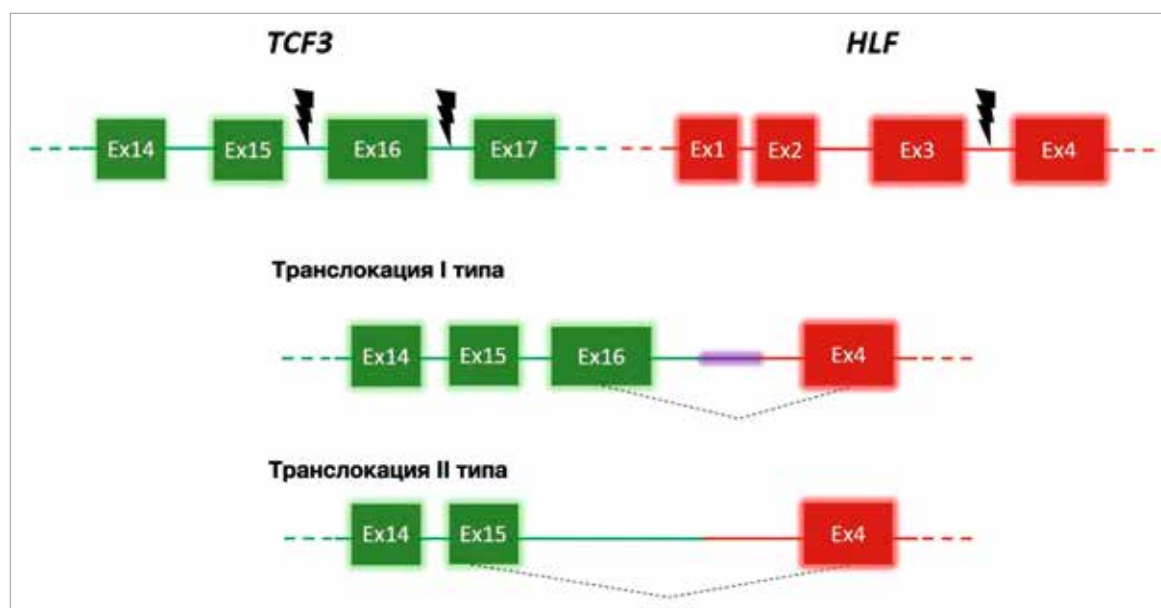
Механизмы образования транслокации t(17;19) I и II типов (адаптировано из [14], с изменениями)

При транслокации I типа происходит соединение экзона 16 гена *TCF3* и экзона 4 гена *HLF*, при транслокации II типа – экзона 15 гена *TCF3* и экзона 4 гена *HLF*. В транслокации I типа также задействованы интроны последовательности, новые сайты сплайсинга и инсерционные последовательности (обозначены пурпурным цветом). Роль этих элементов с точки зрения функциональности образующегося химерного продукта на сегодняшний день не изучена.

**Figure 8**

Mechanisms of formation of the t(17;19) type I and type II translocations (adapted with changes from [14])

Type I translocation results in joining *TCF3* exon 16 to *HLF* exon 4, while type II translocation results in joining *TCF3* exon 15 to *HLF* exon 4. Intronic sequences, new splice sites and inserted sequences (purple) are also involved in type I translocation. The role of these elements in terms of the functionality of the resulting fusion gene product has not yet been studied.



Ранее на различных животных моделях было показано, что транслокации t(17;19) как единственного генетического события недостаточно для развития ОПЛ [18, 19]. В одном из исследований

было показано, что экспрессия *TCF3-HLF* в гемопоэтических стволовых клетках приводит к летальному исходу на уровне эмбриона, в то время как экспрессия на уровне предшественников В-лим-



Рисунок 9

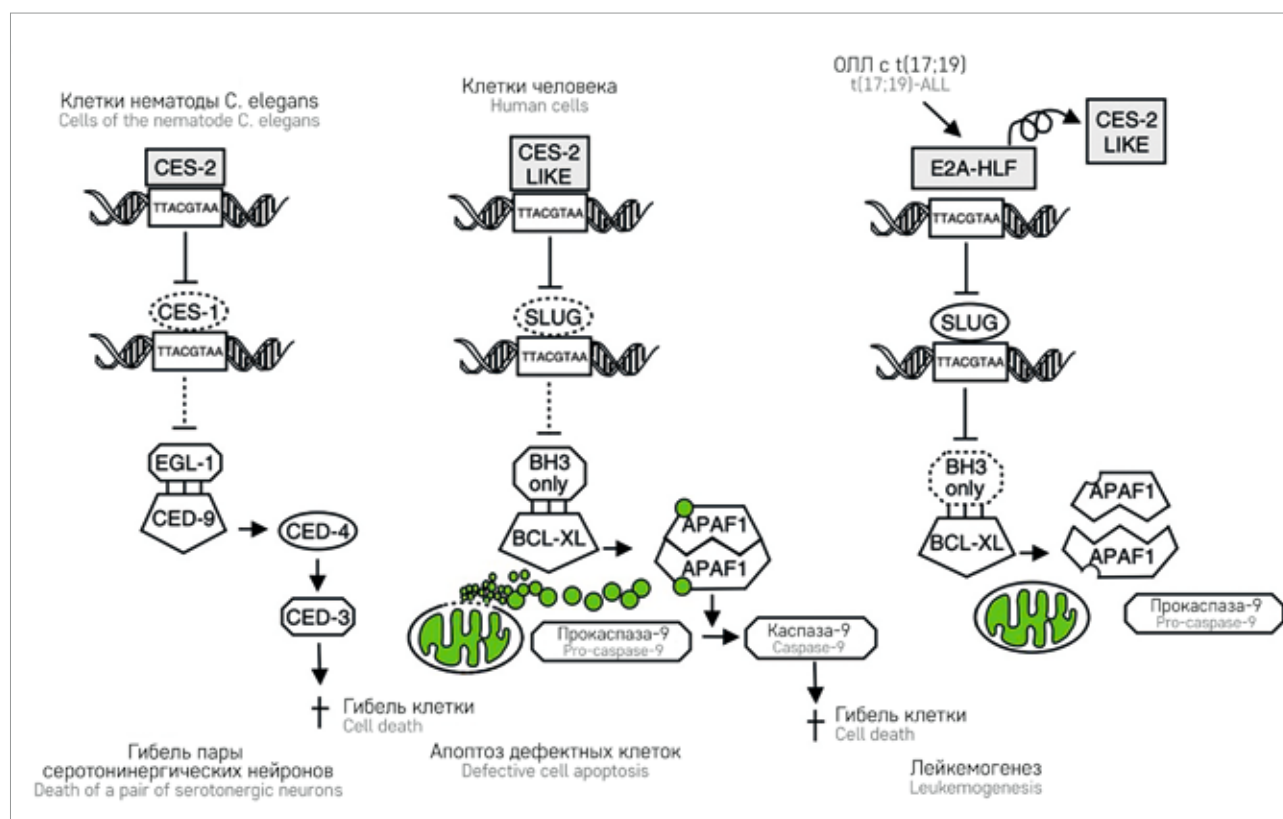
Механизмы апоптоза с участием CES-2 и его гомологов у нематоды и человека, роль химерного онкогена *TCF3::HLF* в патогенезе ОЛЛ (адаптировано из [17], с изменениями)

А – у нематоды *C. elegans* белок CES-2 подавляет экспрессию *ces-1*, тем самым вызывая программируемую клеточную гибель пары серотонинергических нейронов. Этот путь включает активацию EGL-1 – белка BH3-семейства, который нарушает связывание CED-9 и CED-4. В результате высвобождения адаптерного белка CED-4 активируется каспаза CED-3, что в итоге приводит к клеточной гибели; Б – у человека сходный путь гибели клеток регулирует выживание миелоидных предшественников. Гомолог CES-2 подавляет экспрессию *SLUG* (гомолог *ces-1*). В отсутствие *SLUG* происходит активация белка BH3-only, что ведет к подавлению активности антиапоптотических белков, таких как Bcl-2 и Bcl-xL, высвобождению цитохрома С из митохондрий и активации нижестоящих эффекторных молекул (APAF1, каспаза-9); В – поскольку *CES-2* и *TCF3-HLF* распознают одну и ту же последовательность ДНК, экспрессия последнего приводит к подавлению механизмов апоптоза в клетках

Figure 9

Mechanisms of apoptosis involving CES-2 and its homologues in nematodes and humans, the role of fusion oncogene *TCF3::HLF* in the pathogenesis of ALL (adapted with changes from [17])

А – in the nematode *C. elegans*, the CES-2 protein negatively regulates *ces-1* which results in the programmed cell death of a pair of serotonergic neurons. This pathway involves the activation of EGL-1, a BH3 family protein which affects the binding of CED-9 to CED-4. The release of the adaptor protein CED-4 causes the activation of the caspase CED-3, thereby leading to cell death; Б – in humans, a similar cell-death pathway regulates the survival of myeloid progenitors. A CES-2 homologue inhibits the expression of *SLUG* (*ces-1* homologue). In the absence of *SLUG*, the BH3-only protein is activated, resulting in the inhibition of the activity of antiapoptotic proteins such as Bcl-2 and Bcl-xL, the release of cytochrome C from the mitochondria and the activation of downstream effector molecules (APAF1, caspase-9); В – because *CES-2* and *TCF3-HLF* recognize the same DNA sequence, expression of the latter leads to the inhibition of apoptosis in cells



фоцитов ведет к гипосплении и лимфопении, но не является летальной [18]. Эти данные подчеркивают как важность изначального уровня дифференцировки клетки, так и необходимость наличия дополнительных генетических событий для бластной трансформации в случае ОЛЛ с транслокацией t(17;19).

### Особенности клинической картины при остром лимфобластном лейкозе с транслокацией t(17;19)

Интересной особенностью лейкозов с транслокацией t(17;19) являются часто наблюдаемые у этих пациентов нарушения со стороны системы гемостаза, в целом не характерные для лимфобластных лейкозов в детском возрасте. Так, одна из первых публикаций, посвященных характеристике этого

варианта ОЛЛ, представляет собой серию клинических случаев, где из 17 пациентов у 8 наблюдалось развитие ДВС в дебюте заболевания или при рецидиве [20]. Позже были опубликованы новые единичные сообщения о пациентах детского и взрослого возраста с данной транслокацией и нарушениями со стороны системы плазменного свертывания: удлинением протромбинового времени, активированного частичного тромбопластинового времени, гипофибриногенемией [2, 21–23]. К сожалению, на сегодняшний день точные молекулярные механизмы, лежащие в основе нарушений гемостаза у пациентов с транслокацией t(17;19), неизвестны.

Другая особенность лейкозов с транслокацией t(17;19) – часто наблюдаемая гиперкальциемия. Так,

в серии клинических случаев [20] значимое повышение сывороточной концентрации кальция наблюдалось у 10 из 13 пациентов. Inukai и соавт. сообщили о 22 пациентах детского возраста с ОЛЛ и гиперкальциемией ( $> 12$  мг/дл), в том числе о 5 больных с транслокацией t(17;19) [24]. У 11 пациентов наблюдалась повышенная концентрация в сыворотке пептида, родственного паратиреоидному гормону (parathyroid hormone related peptide, PTHrP), – белка, который входит в семейство паратиреоидного гормона и участвует в регуляции кальциевого и костного гомеостаза и процессов развития различных тканей и органов. Это наблюдение позволило предположить наличие связи между наличием у пациента лейкоза с транслокацией t(17;19) и нарушениями работы паратиреоидной оси. Тем не менее в другой публикации, где сообщается о 3 случаях ОЛЛ с транслокацией t(17;19), у 2 пациентов наблюдалась значимая гиперкальциемия (16,8 мг/дл и 15,6 мг/дл), которая, однако, сопровождалась нормальным уровнем PTHrP [2]. Таким образом, механизмы гиперкальциемии при ОЛЛ с транслокацией t(17;19) до конца не изучены.

#### Прогноз и существующие подходы к лечению

Наличие транслокации t(17;19) у пациентов с ОЛЛ ассоциировано с крайне неблагоприятным клиническим прогнозом. По данным литературы, 5-летняя безрецидивная выживаемость пациентов с этой транслокацией составляет 0%, и большинство случаев заканчиваются летальным исходом в течение первых 2 лет с момента постановки диагноза [2, 19, 21]. Таким образом, наличие у пациента этого генетического варианта может рассматриваться в качестве независимого неблагоприятного прогностического фактора [2].

Ввиду малой распространенности и плохого клинического прогноза на сегодняшний день не существует общепринятых рекомендаций относительно подходов к терапии ОЛЛ с транслокацией t(17;19). К сожалению, даже при использовании интенсифицированных схем терапии и проведении ТГСК у пациентов, достигших ремиссии, часто наблюдается развитие рецидива заболевания [13, 22, 24]. В связи с этим предпринимаются попытки изучения эффективности новых подходов к лечению, в частности применения ингибиторов тирозинкиназ, иммунотерапии и клеточной терапии.

Glover и соавт. [25] сообщили о 10-летнем пациенте с ОЛЛ с транслокацией t(17;19), лимфобласты которого продемонстрировали *in vitro* высокую чувствительность к дазатинибу – ингибитору тирозинкиназы BCR-ABL, также обладающему активностью в отношении киназ SRC-семейства (SRC, LCK, YES, FYN), c-KIT, EPHA2, PDGFR $\beta$  и BTK [26]. После добавления дазатиниба в дозировке 60 мг/м<sup>2</sup> к терапии

по протоколу Children's Oncology Group Study для группы очень высокого риска (AALL0031) спустя 2 мес от постановки диагноза пациент достиг клинико-гематологической ремиссии, подтвержденной методами FISH и проточной цитометрии. Спустя 9 мес у пациента случился развернутый рецидив ОЛЛ, сопровождавшийся гиперкальциемией, абдоминальным болевым синдромом и появлением бластов в периферической крови. Пациент скончался спустя 11 мес от постановки диагноза от полиорганной недостаточности. Этот клинический случай указывает на необходимость дальнейших исследований эффективности ингибиторов тирозинкиназ при ОЛЛ с транслокацией t(17;19).

Глубокий анализ мутационного ландшафта ОЛЛ с транслокацией t(17;19) показал, что при этом варианте лейкоза часто наблюдаются мутации генов пути RAS: *NRAS*, *KRAS* и *PTPN11*, наличие которых ассоциировано с более тяжелым течением заболевания и высоким риском рецидива [19]. Исследование эффективности различных терапевтических агентов с помощью ксенографтных моделей продемонстрировало резистентность ОЛЛ с транслокацией t(17;19) к классическим химиотерапевтическим агентам, включая аналоги нуклеотидов (например, цитарабин) и ингибиторов веретена деления (например, винкристин), но высокую чувствительность к глюкокортикоидам, антрациклинам и ряду таргетных препаратов. В частности, крайне высокую эффективность продемонстрировал венетоклакс (ABT-99) – селективный ингибитор белка Bcl-2. Несмотря на впечатляющие результаты в исследованиях *ex vivo* и *in vivo*, данные о клинической эффективности венетоклакса у пациентов с ОЛЛ с транслокацией t(17;19) на данный момент крайне ограничены.

Учитывая высокую экспрессию CD19, свойственную бластным клеткам при ОЛЛ с транслокацией t(17;19) [27], перспективным представляется использование в лечении этого заболевания CD19-направленной иммунотерапии. Так, Mouttet и соавт. сообщили об успешном опыте применения блинатумомаба у 9 пациентов с ОЛЛ с транслокацией t(17;19) [27]. Блинатумомаб представляет собой биспецифическое анти-CD3- и анти-CD19-антитело, которое способно рекрутировать собственные Т-клетки пациента против В-клеток, экспрессирующих CD19, опосредуя их лизис. Большая часть пациентов получали блинатумомаб во время первой консолидации в качестве бридж-терапии перед проведением ТГСК. Все пациенты достигли МОБ-негативной ремиссии после терапии блинатумомабом, 7 из них получили ТГСК, для 1 больного она планировалась на момент публикации. Медиана наблюдения с момента начала терапии блинатумомабом составила 342 дня, и 4 пациента по-прежнему находились в ремиссии спустя

1317, 1292, 1245 и 342 дня. Три пациента умерли ввиду инфекционных осложнений, не связанных с терапией блинатумомабом [27]. Полученные результаты указывают на то, что CD19-направленная терапия может рассматриваться у пациентов с ОЛЛ с транслокацией t(17;19) сразу после завершения индукции. Тем не менее необходимо подтверждение данных об эффективности этого подхода на больших группах пациентов.

Другим перспективным направлением в лечении пациентов с ОЛЛ с транслокацией t(17;19) представляется использование аутологичных Т-клеток с химерными антигенными рецепторами (CAR-T). Химерный антигенный рецептор состоит из внеклеточного домена – одноцепочечного варибельного фрагмента антитела (single-chain variable fragment) и внутриклеточных сигнальных доменов, состоящих из  $\xi$ -цепи CD3 и дополнительных ко-стимулирующих молекул. Активация Т-клеток происходит в процессе передачи сигнала от внеклеточного домена, который распознает опухолевый антиген, через трансмембранный домен на внутриклеточный. Такая структура CAR позволяет Т-лимфоцитам специфически реагировать на опухолевые клетки, экспрессирующие избранные антигены, несмотря на их генетические особенности. Ранее Wang и соавт. сообщили о первом опыте оценки клинической эффективности иммунотерапии CAR-T-клетками у пациентов с рецидивом/рефрактерным течением *TCF3-HLF*-позитивного ОЛЛ [21]. При ОЛЛ с транслокацией t(17;19) наблюдается высокая экспрессия бластными клетками как CD19, так и CD22. Авторы сообщили о 4 пациентах детского возраста, которые получили терапию только CD19-специфичными или комбинированную терапию CD19- и CD22-специфичными CAR-T-клетками после стандартного кондиционирования с использованием флударабина и циклофосфамида. Пациенты получили инфузии  $18 \times 10^6$ ,  $6 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^6$  и  $7 \times 10^6$  CAR-T-клеток/кг массы тела. Все 4 пациента достигли МОБ-негативной ремиссии после проведения CAR-T-терапии. Двум пациентам (1 и 3) впоследствии была проведена ТГСК от гаплоидентичного донора. У пациента 1 развился рецидив заболевания через 7,2 мес после трансплантации, и он получил инфузию донорских анти-CD19-/CD22-CAR-T-лимфоцитов, после чего была констатирована вторая клинико-гематологическая ремиссия и проведена трансплантация пуповинной крови. К сожалению, этот ребенок умер от реакции «трансплантат против хозяина» тяжелой степени через 8,4 мес после повторной трансплантации. У пациентов 2 и 4 наблюдался клинический ответ на CAR-T-терапию без ТГСК в течение 13,8 и 6,8 мес соответственно. Пациент 3 находился в ремиссии в течение 10,6 мес на момент публикации [21].

Несмотря на ретроспективный характер исследования и короткий период наблюдения за пациентами, полученные данные о клинической эффективности CAR-T-терапии позволяют рассматривать ее в качестве многообещающего терапевтического подхода в лечении ОЛЛ с транслокацией t(17;19).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Описанный нами пациент имел классические клинические признаки, описанные ранее в мировой литературе у больных ОЛЛ с транслокацией t(17;19). Характерные электролитные и коагулогические нарушения, как и описано в литературе, постепенно купируются по мере снижения бластоза и становления ремиссии.

Многие больные, описанные в литературе, формально достигают клинико-гематологической ремиссии, но быстро рецидивируют. Ранее в нашем исследовании ALL-MB 2015 уже были отмечены 2 больных с данной формой лейкоза, генетическая поломка у которых была идентифицирована только в момент ранних костномозговых рецидивов при уточняющем генетическом исследовании в референс-лаборатории. Ретроспективный анализ данных случаев показал, что эти 2 пациента достигли клинико-лабораторных ремиссий в срок и получали протокольное лечение в региональных клиниках без каких-либо особенностей. К сожалению, заболевание у этих больных оказалось абсолютно рефрактерным к проведенному противорецидивному лечению и они оба погибли. Как было показано Fischer и соавт., большинство пациентов с данным лейкозом являются МОБ-позитивными после индукции. В описанном нами случае даже морфологическая ремиссия в ходе 4-компонентной терапии индукции по протоколу ALL-MB 2015 достигнута не была. Зная плохой прогноз заболевания, мы сразу решили прибегнуть к наиболее перспективной тактике лечения – иммунотерапии. До настоящего времени неизвестно, какой метод иммунотерапии предпочтителен – применение моноклональных антител к антигенам бластных клеток CD19 и/или CD22 или CAR-T-клеточная терапия аутологичными лимфоцитами, направленными к тем же антигенам. Не до конца изучены предикторы рецидива после блинатумомаба и инотузумаба озогамидина, а также CAR-T-клеточной терапии. Неясно также, всегда ли такая терапия будет являться лишь «мостиком» к аллогенной ТГСК или возможны варианты лечения без трансплантации. Применительно к ОЛЛ с транслокацией t(17;19) большинство исследователей пока не рискуют отказываться от ТГСК без убедительных причин.

Выбор терапии в нашем случае оказался случайным и был обусловлен большей доступностью

в тот момент не блинатуномаба, а аутологичных CAR-T-клеток. Тем не менее всего через 2 нед после инфузии 1 дозы аутологичных CD19-направленных CAR-T-лимфоцитов была достигнута ИФТ-МОБ- и молекулярная ремиссия заболевания, которая сохранялась примерно год. К сожалению, родители отказались от предложенной аллогенной ТГСК, имея полностью совместимого родственного донора-сисба. Данный отказ, очевидно, был инспирирован довольно выраженной токсичностью (III–IV степени) клеточной терапии, что вызвало обоснованные страхи перед ТГСК. В интервале между 360-ми и 450-ми сутками от введения CAR-T-клеток у пациента развился молекулярный и МОБ-рецидив с потерей экспрессии CD19 на поверхности бластных клеток, которые и далее оставались CD19-негативными [28]. К счастью, в то же время высокая экспрессия CD22 сохранялась, что позволило предпринять попытку терапии биспецифичными CD19-/CD22-CAR-T-аутолимфоцитами [29, 30], оказавшуюся неудачной, но и нетоксичной. После введения биспецифичных CD19-/CD22-CAR-T-лимфоцитов процентное содержание CD22-позитивных бластных клеток несколько снизилось (рисунк 6B). Также изменилось среднее количество молекул CD22 на 1 клетке (рисунк 6Г), определявшееся при помощи системы QuantiBRITE (Becton Dickinson, SJ, CA) [31]. Тем не менее перед началом курса инотузумаба озогамидина плотность экспрессии CD22 была наиболее высокой, что является одним из факторов благоприятного прогноза при таргетировании CD22 [32, 33]. В интервале между второй попыткой клеточной терапии и терапией инотузумабом озогамидином у пациента начал нарастать уровень МОБ и попытки реиндукции высокодозными блоками химиотерапии оказались абсолютно неэффективными – прямо на фоне химиотерапии у больного развился развернутый костномозговой рецидив ОЛЛ. Данное наблюдение еще раз подчеркивает бесперспективность у подобных больных проведения химиотерапии, так как кроме инфекционных осложнений, неминуемо

сопровождающих миелотоксическую цитопению, никакого эффекта получить обычно не удается. Терапия инотузумабом озогамидином оказалась ожидаемо высокоэффективной с быстрым достижением молекулярной и ИФТ-МОБ-ремиссии. В этот раз, несмотря на существенные риски веноокклюзионной болезни печени, было решено не откладывать консолидирующую ремиссию аллогенную ТГСК, которая, к счастью, оказалась лишенной токсичности.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящий случай представляет собой важное наблюдение возможности достижения глубокой ремиссии на фоне иммунотерапии и перспективности попыток терапии в случае молекулярного или развернутого морфологического рецидива у больных ОЛЛ с транслокацией t(17;19). Смена таргетной цели или мультитаргетное воздействие в подобных случаях являются обоснованной стратегией, позволяющей достичь успеха терапии. Отказаться от аллогенной ТГСК, однако, в подобных случаях пока невозможно. Учитывая известную резистентность к химиотерапии, такой подход может применяться и в постиндукционной терапии первой линии для достижения максимально «глубокой» ремиссии перед ТГСК.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

## ORCID

Litvinov D.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7461-0050>  
 Shelikhova L.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0520-5630>  
 Khachatryan L.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7265-0414>  
 Popov A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0889-6986>  
 Myakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>  
 Romyantseva Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9670-3728>  
 Karachunskiy A.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9300-5198>

## Литература

- Huang Y., Mouttet B., Warnatz H.-J., Risch T., Rietmann F., Frommelt F., et al. The Leukemogenic TCF3-HLF Complex Rewires Enhancers Driving Cellular Identity and Self-Renewal Conferring EP300 Vulnerability. *Cancer Cell* 2019; 36 (6): 630–44.e9. DOI: 10.1016/j.ccell.2019.10.004
- Minson K.A., Prasad P., Vear S., Borinstein S., Ho R., Domm J., Frangoul H. t(17;19) in Children with Acute Lymphocytic Leukemia: A Report of 3 Cases and a Review of the Literature. *Case Rep Hematol* 2013; 2013: 563291. DOI: 10.1155/2013/563291
- Hakeem A., Shiekh A.A., Bhat G.M., Lone A.R. Prognostication of ALL by Cytogenetics. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2015; 31 (3): 322–31. DOI: 10.1007/s12288-014-0483-0
- Lazaryan A., Dolan M., Zhang M.-J., Wang H.-L., Kharfan-Dabaja M.A., Marks D.I., et al. Impact of cytogenetic abnormalities on outcomes of adult Philadelphia-negative acute lymphoblastic leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a study by the Acute Leukemia Working Committee of the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. *Haematologica* 2020; 105 (5): 1329–38. DOI: 10.3324/haematol.2019.220756
- Попов А.М., Белевцев М.В., Боякова Е.В., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Л.В., Фадеева М.С. и др. Стандартизация определения минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом. Опыт работы российско-белорус-



- ской кооперативной группы. Онкогематология 2016; 11 (4): 64–73. DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-4-64-73
6. Mikhailova E., Semchenkova A., Illarionova O., Kashpor S., Brilliantova V., Zakharova E., et al. Relative expansion of CD19-negative very-early normal B-cell precursors in children with acute lymphoblastic leukaemia after CD19 targeting by blinatumomab and CAR-T cell therapy: implications for flow cytometric detection of minimal residual disease. *Br J Haematol* 2021; 193 (3): 602–12. DOI: 10.1111/bjh.17382
  7. Mikhailova E., Itov A., Zerkalenkova E., Roumiantseva J., Olshanskaya Yu., Karachunskiy A., et al. B-lineage antigens that are useful to substitute CD19 for minimal residual disease monitoring in B cell precursor acute lymphoblastic leukemia after CD19 targeting. *Cytometry B Clin Cytom* 2022; 102 (5): 353–9. DOI: 10.1002/cyto.b.22088
  8. Hunger S. Chromosomal translocations involving the *E2A* gene in acute lymphoblastic leukemia: clinical features and molecular pathogenesis. *Blood* 1996; 87 (4): 1211–24.
  9. Hunger S., Devaraj P.E., Foroni L., Secker-Walker L.M., Cleary M.L. Two types of genomic rearrangements create alternative *E2A*-HLF fusion proteins in t(17;19)-ALL. *Blood* 1994; 83 (10): 2970–7.
  10. Kadesch T. Helix-loop-helix proteins in the regulation of immunoglobulin gene transcription. *Immunol Today* 1992; 13 (1): 31–6. DOI: 10.1016/0167-5699(92)90201-h
  11. Ольховский И.А., Комина А.В., Столяр М.А., Горбенко А.С. Молекулярно-генетические нарушения при острых лейкозах как основа разработки диагностических тестов (обзор литературы). *Лабораторная служба* 2020; 9 (4): 26–45. DOI: 10.17116/labs2020904126
  12. Huang Y., Bourquin J.-P. Targeting the oncogenic activity of TCF3-HLF in leukemia. *Mol Cell Oncol* 2020; 7 (3): 1709391. DOI: 10.1080/23723556.2019.1709391
  13. Panagopoulos I., Micci F., Thorsen J., Haugom L., Tierens A., Ulvmoen A., Heim S. A novel TCF3-HLF fusion transcript in acute lymphoblastic leukemia with a t(17;19)(q22;p13). *Cancer Genet* 2012; 205 (12): 669–72. DOI: 10.1016/j.cancergen.2012.10.004
  14. Lejman M., Włodarczyk M., Zawitkowska J., Kowalczyk J.R. Comprehensive chromosomal aberrations in a case of a patient with TCF3-HLF-positive BCP-ALL. *BMC Med Genomics* 2020; 13 (1): 58. DOI: 10.1186/s12920-020-0709-y
  15. Hunger S.P., Brown R., Cleary M.L. DNA-Binding and Transcriptional Regulatory Properties of Hepatic Leukemia Factor (HLF) and the t(17;19) Acute Lymphoblastic Leukemia Chimera E2A-HLF. *Mol Cell Biol* 1994; 14 (9): 5986–96. DOI: 10.1128/mcb.14.9.5986-5996.1994
  16. Honda H., Inaba T., Suzuki T., Oda H., Ebihara Y., Tsuiji K., et al. Expression of E2A-HLF chimeric protein induced T-cell apoptosis, B-cell maturation arrest, and development of acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1999; 93 (9): 2780–90.
  17. O'Neil J., Look A.T. Mechanisms of transcription factor deregulation in lymphoid cell transformation. *Oncogene* 2007; 26 (47): 6838–49. DOI: 10.1038/sj.onc.1210766
  18. Duque-Afonso J., Smith K.S., Cleary M.L. Conditional Expression of E2A-HLF Induces B-Cell Precursor Death and Myeloproliferative-Like Disease in Knock-In Mice. *PLoS One* 2015; 10 (11): e0143216. DOI: 10.1371/journal.pone.0143216
  19. Fischer U., Forster M., Rinaldi A., Risch T., Sungalee S., Warnatz H.-J., et al. Genomics and drug profiling of fatal TCF3-HLF-positive acute lymphoblastic leukemia identifies recurrent mutation patterns and therapeutic options. *Nat Genet* 2015; 47 (9): 1020–9. DOI: 10.1038/ng.3362
  20. Raimondi S., Privitera E., Williams D.L., Look A.T., Behm F., Rivera G.K., et al. New recurring chromosomal translocations in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1991; 77 (9): 2016–22.
  21. Wang T., Wan X., Yang F., Shi W., Liu R., Ding L., et al. Successful Treatment of TCF3-HLF-positive Childhood B-ALL with Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2021; 21 (6): 386–92. DOI: 10.1016/j.clml.2021.01.014
  22. Wu S., Lu J., Su D., Yang F., Zhang Y., Hu S. The advantage of chimeric antigen receptor T cell therapy in pediatric acute lymphoblastic leukemia with E2A-HLF fusion gene positivity: a case series. *Transl Pediatr* 2021; 10 (3): 686–91. DOI: 10.21037/tp-20-32
  23. Safavi M., Safaei A., Lotfi M. A rare variant of t(17;19) in a case of Philadelphia positive adult acute lymphoblastic leukemia presenting with disseminated intravascular coagulation. *Blood Res* 2018; 53 (1): 92–4. DOI: 10.5045/br.2018.53.1.92
  24. Inukai T., Hirose K., Inaba T., Kurosawa H., Hama A., Inada H., et al. Hypercalcemia in childhood acute lymphoblastic leukemia: frequent implication of parathyroid hormone-related peptide and E2A-HLF from translocation 17;19. *Leukemia* 2007; 21 (2): 288–96. DOI: 10.1038/sj.leu.2404496
  25. Glover J.M., Loriaux M., Tyner J.W., Druker B.J., Chang B.H. *In vitro* sensitivity to dasatinib in lymphoblasts from a patient with t(17;19)(q22;p13) gene rearrangement pre-B acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2012; 59 (3): 576–9. DOI: 10.1002/pbc.23383
  26. Hantschel O., Rix U., Schmidt U., Bürckstümmer T., Kneidinger M., Schütze G., et al. The Btk tyrosine kinase is a major target of the Bcr-Abl inhibitor dasatinib. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104 (33): 13283–8. DOI: 10.1073/pnas.0702654104
  27. Mouttet B., Vinti L., Ancliff P., Bodmer N., Brethon B., Cario G., et al. Durable remissions in TCF3-HLF positive acute lymphoblastic leukemia with blinatumomab and stem cell transplantation. *Haematologica* 2019; 104 (6): e244–7. DOI: 10.3324/haematol.2018.210104
  28. Sotillo E., Barrett D.M., Black K.L., Bagashev A., Oldridge D., Wu G., et al. Convergence of Acquired Mutations and Alternative Splicing of CD19 Enables Resistance to CART-19 Immunotherapy. *Cancer Discov* 2015; 5 (12): 1282–95. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-1020
  29. Cordoba S., Onuoha S., Thomas S., Soriano Pignataro D., Hough R., Ghoshashian S., et al. CAR T cells with dual targeting of CD19 and CD22 in pediatric and young adult patients with relapsed or refractory B cell acute lymphoblastic leukemia: a phase 1 trial. *Nat Med* 2021; 27 (10): 1797–805. DOI: 10.1038/s41591-021-01497-1
  30. Spiegel J.Y., Patel S., Muffy L., Hosain N.M., Oak J., Baird J.H., et al. CAR T cells with dual targeting of CD19 and CD22 in adult patients with recurrent or refractory B cell malignancies: a phase 1 trial. *Nat Med* 2021; 27 (8): 1419–31. DOI: 10.1038/s41591-021-01436-0
  31. Shah N.N., Stevenson M.S., Yuan C.M., Richards K., Delbrook C., Kreitman R.J., et al. Characterization of CD22 expression in acute lymphoblastic leukemia: CD22 Expression in ALL. *Pediatr Blood Cancer* 2015; 62 (6): 964–9. DOI: 10.1002/pbc.25410
  32. Ramakrishna S., Highfill S.L., Walsh Z., Nguyen S.M., Lei H., Shern J.F., et al. Modulation of Target Antigen Density Improves CAR T-cell Functionality and Persistence. *Clin Cancer Res* 2019; 25 (17): 5329–41. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3784
  33. Fry T.J., Shah N.N., Orentas R.J., Stetler-Stevenson M., Yuan C.M., Ramakrishna S., et al. CD22-targeted CAR T cells induce remission in B-ALL that is naive or resistant to CD19-targeted CAR immunotherapy. *Nat Med* 2018; 24 (1): 20–8. DOI: 10.1038/nm.4441



DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-115-118

# Опыт проведения лапароскопической аппендэктомии у ребенка с ингибиторной формой гемофилии А, получающего профилактическую терапию эмицизумабом

И.Н. Лаврентьева, В.В. Вдовин, В.Ю. Петров, П.А. Мордвин, Т.В. Шевченко,  
И.Ю. Копылов, О.А. Тиганова, Э.В. Кумирова, М.Ю. Козлов

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

Хирургические вмешательства, в том числе с высоким риском послеоперационного кровотечения, у пациентов, получающих профилактическую терапию эмицизумабом, не ассоциированы с большими рисками или техническими сложностями в сравнении с больными, получающими стандартную заместительную терапию. Напротив, наличие эмицизумаба в кровотоке и поддержание с его помощью постоянного базового гемостаза позволяет снизить дозу и продолжительность введения препаратов шунтирующего действия. При проведении хирургических вмешательств с высоким риском послеоперационного кровотечения необходимо обеспечить дополнительный гемостаз в течение 2–3 послеоперационных суток. В дальнейшем решение о продолжительности гемостатической терапии принимается индивидуально. Лучше предпочесть введение рекомбинантного активированного фактора VII для профилактики/остановки послеоперационного кровотечения у пациентов с ингибиторной формой гемофилии А, которые получают эмицизумаб или принимали его в последние 6 мес. В случае необходимости назначения антиингибиторного коагулянтного комплекса запрещено превышать дозу 100 Ед/кг/сут. В данной статье мы представляем первый опыт выполнения лапароскопической аппендэктомии у ребенка 8 лет с ингибиторной формой гемофилии А, получающего профилактическую терапию эмицизумабом. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

**Ключевые слова:** гемофилия А, эмицизумаб, рекомбинантный активированный фактор VII, кровотечение, профилактическая терапия

Лаврентьева И.Н. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022; 21 (3): 115–118. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-115-118

## Laparoscopic appendectomy in a child with hemophilia A with inhibitors receiving prophylactic treatment with emicizumab

I.N. Lavrentyeva, V.V. Vdovin, V.Yu. Petrov, P.A. Mordvin, T.V. Shevchenko, I.Yu. Kopylov, O.A. Tiganova,  
E.V. Kumirova, M.Yu. Kozlov

The Morozov Children's Clinical Hospital of the Department of Health of Moscow, Moscow

Surgeries in patients treated prophylactically with emicizumab (including surgical procedures with a high risk of postoperative bleeding) are not associated with higher risks or technical difficulties compared with operations in patients receiving standard replacement therapy. On the contrary, the presence of emicizumab in the blood and its maintenance of permanent basic hemostasis allow for the reduction of doses and infusion time of bypassing agents. Patients undergoing surgical procedures with a high risk of postoperative bleeding require an additional hemostatic treatment during the first two or three days after the surgery. Then the duration of hemostatic treatment should be determined individually. We recommend the use of recombinant activated factor VII for the prevention/control of postoperative bleeding in patients with hemophilia A with inhibitors who are currently receiving emicizumab or have received it in the past 6 months. If treatment with anti-inhibitor coagulant complex is required, the daily dose should not exceed 100 units/kg. Here we report the first case of laparoscopic appendectomy in an 8-year-old child with hemophilia A with inhibitors receiving prophylactic treatment with emicizumab. The patient's parents gave their consent to the use of their child's data, including photographs, for research purposes and in publications.

**Key words:** hemophilia A, emicizumab, recombinant activated factor VII, bleeding, prophylactic treatment

Lavrentyeva I.N., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (3): 115–118.  
DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-115-118

© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ  
им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России  
Поступила 01.09.2022  
Принята к печати 21.09.2022

### Контактная информация:

Лаврентьева Инна Николаевна,  
врач-гематолог, заведующая  
гематологическим отделением  
ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ»  
Адрес: 119049, Москва,  
4-й Добрынинский пер., 1/9  
E-mail: inna.nem@mail.ru

© 2022 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 01.09.2022

Accepted 21.09.2022

### Correspondence:

Inna N. Lavrentyeva,  
a hematologist,  
Head of the Department of Hematology  
at the Morozov Children's Clinical Hospital  
Address: 1/9, 4th Dobryninsky Lane,  
Moscow 119049, Russia  
E-mail: inna.nem@mail.ru

С 2014 г. в мировой практике в арсенале врача-гематолога появился новый препарат для обеспечения профилактической гемостатической терапии пациентам с гемофилией А – эмицизумаб. С 2018 г. данный препарат входит в клиническую практику в нашей стране, однако до настоящего времени опыт оперативного лечения пациентов с гемофилией А, получающих эмицизумаб, исчисляется единичными случаями.

Эмицизумаб – моноклональное антитело, отличное по молекулярной структуре, но замещающее функцию отсутствующего фактора VIII (FVIII) у пациентов с гемофилией А [1]. В 2018 г. эмицизумаб был зарегистрирован в России для пациентов с ингибиторной формой гемофилии А и в 2019 г. – для больных гемофилией А без ингибитора FVIII [2]. С этого времени нарастает число пациентов, получающих профилактическую терапию эмицизумабом, в том числе среди детей.

В настоящий момент в России отсутствуют протоколы и рекомендации по оказанию хирургической помощи пациентам, получающим эмицизумаб, и практикующие врачи-хирурги и врачи-гематологи при проведении оперативных вмешательств и подборе гемостатической пред- и послеоперационной терапии опираются на международные рекомендации и практический опыт коллег.

Мы представляем первый опыт выполнения лапароскопической аппендэктомии у ребенка 8 лет с ингибиторной формой гемофилии А, получающего профилактическую терапию эмицизумабом. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

## КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Мальчик, 2016 года рождения, попал под наше наблюдение в возрасте 8 месяцев, когда в марте 2017 г. родители обратились в приемное отделение с жалобами на отек левого коленного сустава с резким ограничением и болезненностью движений в нем. Ребенок был госпитализирован.

Из анамнеза известно, что при рождении у ребенка сформировалась кефалогематома. На 2-м и 3-м месяцах жизни отмечались эпизоды длительного кровотечения после забора крови из пальца. С возраста 6 месяцев, когда ребенок стал более активным, мама обращала внимание на спонтанное появление экхимозов на теле. Семейный анамнез по гемофилии не отягощен.

По результатам клинического осмотра и данным анамнеза заподозрена патология системы гемостаза. При обследовании обнаружено удлинение активированного частичного тромбопластинового

времени до 116 с, снижение активности FVIII до 4,6%. Остальные показатели гемостаза в пределах нормы. На основании данных анамнеза, результатов осмотра и лабораторного обследования установлен диагноз: гемофилия А. Обширная межмышечная гематома левого бедра. Железодефицитная анемия I-II степени. Проведена интенсивная заместительная терапия плазматическим препаратом FVIII в дозе 500 МЕ/сут. Пациент выписан в удовлетворительном состоянии. Учитывая ранний дебют заболевания и фенотипически тяжелое клиническое течение, рекомендовано начать профилактическую терапию гемофилии А препаратом FVIII в дозе 500 МЕ, через день.

Спустя 5 мес терапии ребенок госпитализирован с гематомой грудной клетки, не купируется на фоне терапии препаратом FVIII в адекватных дозах. При обследовании обнаружен ингибитор FVIII в титре 3,4 БЕ, снижение активности FVIII до 0,8%. Терапия была скорректирована, назначены препараты шунтирующего действия «по требованию».

Развитие ингибитора FVIII привело к ухудшению состояния пациента и нарастанию частоты кровотечений: за 2018 г. у ребенка случилось 7 кровотечений, в том числе 5 гемартрозов. За 9 мес 2019 г. зарегистрировано 22 кровотечения, 7 из которых пришлось на гемартрозы различной локализации. Это привело к формированию 2 таргетных суставов у ребенка уже к возрасту 3 лет.

В сентябре 2019 г. в связи с нарастающим геморрагическим синдромом и крайне тяжелым фенотипом заболевания ребенку была назначена нефакторная заместительная терапия препаратом эмицизумаб в дозе 1,5 мг/кг 1 раз в неделю после введения 4 нагрузочных доз.

После замены профилактической терапии на эмицизумаб не зарегистрировано ни одного спонтанного кровотечения.

В октябре 2020 г. ребенок госпитализирован с посттравматическим подвывихом лучевой кости после падения на руку. Перед вправлением однократно введен препарат рекомбинантного активированного фактора VII (rFVIIa), гематома не сформировалась. На следующий день ребенок снова падает во время активной игры и снова получает подвывих руки. Повторное вправление было проведено без введения дополнительной гемостатической терапии, гематома не сформировалась. Инъекция эмицизумаба 1,5 мг/кг была сделана за 6 дней до травмы согласно режиму введения, терапия не прерывалась. Ребенок выписан в удовлетворительном состоянии.

## Операция лапароскопической аппендэктомии

В июне 2022 г. ребенок госпитализирован в отделение неотложной абдоминальной хирургии с клиникой острого живота, подъемом температуры.

По результатам клинического осмотра, инструментального и лабораторного обследований установлен диагноз: острый аппендицит. Сопутствующий диагноз: гемофилия А, ингибиторная форма.

Выполнено предоперационное профилактическое введение препарата rFVIIa в дозе 90 мкг/кг.

Проведена открытая лапароскопия. При ревизии в малом тазу обнаружено умеренное количество мутного выпота. Аппендикс утолщен, гиперемирован, напряжен, с наложениями фибрина на верхушке (рисунк 1). Аппендэктомия выполнена лигатурным способом (рисунк 2). Послеоперационный диагноз: флегмонозный аппендицит, подтвержден патогистологическим исследованием.

В послеоперационном периоде через 3 ч после первого введения повторно введен препарат rFVIIa в такой же дозе – 90 мкг/кг.

В дальнейшем решено увеличить интервал введения rFVIIa, однако через 3 ч 40 мин зарегистрировано необильное кровотечение из послеоперационного шва в области пупка, введен rFVIIa в дозе 90 мкг/кг, кровотечение остановлено. Далее

**Рисунок 1**  
Флегмонозный аппендицит

**Figure 1**  
Phlegmonous appendicitis



**Рисунок 2**  
Аппендэктомия лигатурным способом

**Figure 2**  
Appendectomy performed using a ligation technique



пациент получал rFVIIa каждые 4 ч. Во 2-е послеоперационные сутки rFVIIa вводился в прежней дозе – 90 мкг/кг, каждые 6 ч, на 3-и послеоперационные сутки – каждые 12 ч. Терапия препаратом rFVIIa оставлена на 4-е послеоперационные сутки. Терапия эмицизумабом не отменялась, препарат вводился согласно прежнему графику в дозе 1,5 мг/кг. Тромботических осложнений зарегистрировано не было.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Лапароскопическая аппендэктомия у пациентов с гемофилией А относится к хирургическим вмешательствам с высоким риском послеоперационного кровотечения [3] и однозначно требует введения дополнительных гемостатических препаратов (FVIII или rFVIIa) до и несколько суток после операции.

В рекомендациях, разработанных французской группой экспертов, при проведении операций с высоким риском кровотечения у пациентов с ингибиторной формой гемофилии А, получающих эмицизумаб, рекомендовано предоперационное введение препарата rFVIIa в дозе 90 мкг/кг. Продолжительность дополнительной гемостатической терапии определяется клиническим состоянием пациента [4].

Эксперты AICE, SiBioC, SIMEU, SIMEUP, SIPMeL и SISET также рекомендуют при проведении оперативных вмешательств с высоким риском кровотечения профилактическое применение препаратов rFVIIa в дозе 90 мкг/кг и их повторные введения в такой же дозе каждые 2–4 ч в 1-е послеоперационные сутки с дальнейшей оценкой состоятельности гемостаза [5].

Мы также считаем, что при проведении аппендэктомии однозначно требуется дополнительное введение препаратов FVIII или rFVIIa (в зависимости от наличия/отсутствия ингибиторов FVIII) в первые 2–3 сут после операции. В дальнейшем необходимо оценить состоятельность гемостаза и принимать решение о продолжительности терапии в каждом отдельном случае индивидуально.

Препарат rFVIIa был выбран как наиболее безопасный и достаточно эффективный в данной группе пациентов. Согласно инструкции к препарату и накопленному международному клиническому опыту рекомендуется избегать совместного применения антиингибиторного коагулянтного комплекса (АИКК) и эмицизумаба или при отсутствии других терапевтических опций не превышать суточную дозу АИКК 100 ЕД/кг/сут в том случае, если пациент получает или принимал в течение последних 6 мес эмицизумаб [1]. Это ограничение связано с 2 случаями тромбозов и 3 случаями тромботической микроангиопатии, зарегистрированными у пациентов, получающих эмицизумаб в ходе клинического исследования HAVEN1,

которые ввели себе АИКК для купирования кровотечения в дозе более 200 Ед/кг/сут [6].

Напротив, при анализе хирургических вмешательств у пациентов, получающих эмицизумаб в ходе клинических исследований или в реальной клинической практике, rFVIIa показал себя безопасным и достаточно эффективным для профилактики и купирования послеоперационных кровотечений. При анализе хирургических вмешательств, проведенных у пациентов, получающих эмицизумаб, которым вводили rFVIIa, не было зарегистрировано ни одного

тромботического события как в рамках клинических исследований HAVEN1–2, так и в описаниях реальной клинической практики [7–11].

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

#### ORCID

Lavrentyeva I.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2747-695X>

## Литература

1. Инструкция по медицинскому применению эмицизумаба. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.vidal.ru/drugs/gemlibra-3>. Дата обращения 01.08.2022.
2. Государственный реестр лекарственных средств. [Электронный ресурс]. URL: [https://grls.rosminzdrav.ru/Grls\\_View\\_v2.aspx?routingGuid=91dea4b4-1c3d-4c17-aef5-e164aa735ecf](https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=91dea4b4-1c3d-4c17-aef5-e164aa735ecf). Дата обращения 01.08.2022.
3. Ревитшвили А.Ш., Шляхто Е.В., Замятин М.Н., Баранова Е.И., Божкова С.А., Вавилова Т.В. и др. Особенности оказания экстренной и неотложной медицинской помощи пациентам, получающим прямые оральные антикоагулянты. Согласительный документ междисциплинарной группы экспертов. Вестник аритмологии 2018; 92: 59–72. DOI: 10.25760/VA-2018-92-59-72
4. Susen S., Gruel Y., Godier A., Harroche A., Chambost H., Lasne D., et al. Management of bleeding and invasive procedures in haemophilia A patients with inhibitor treated with emicizumab (Hemlibra®): proposals from the French network on inherited bleeding disorders (MHEMO), the French Reference Centre on Haemophilia, in collaboration with the French Working Group on Perioperative Haemostasis (GIHP). Haemophilia 2019; 25 (5): 731–7. DOI: 10.1111/hae.13817
5. Castaman G., Santoro C., Coppola A., Mancuso M.E., Santoro R.C., Bernardini S., et al. Emergency management in patients with haemophilia A and inhibitors on prophylaxis with emicizumab: AICE practical guidance in collaboration with SIBioC, SIMEU, SIMEUP, SIPMeL and SISET. Blood Transfus 2020; 18(2): 143. DOI:10.2450/2019.0186-19
6. Oldenburg J., Mahlangu J.N., Bujan W., Trask P., Callaghan M.U., Young G., et al. The effect of emicizumab prophylaxis on health-related outcomes in persons with haemophilia A with inhibitors: HAVEN 1 Study. Haemophilia 2019; 25 (1): 33–44. DOI: 10.1111/hae.13618
7. Evans M.S., Davis C. III, Eyster M.E. Total knee replacement with and without emicizumab: a unique comparison of perioperative management. Blood Adv 2020; 4 (5): 855–7. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019001060
8. Santagostino E., Oldenburg J., Chang T. Surgical experience from four phase III studies (HAVEN 1-4) of emicizumab in persons with haemophilia A (PwHA) with or without FVIII inhibitors. Res Pract Thromb Haemost 2019; 3 (S1): 115.
9. McCary I., Guelcher C., Kuhn J., Butler R., Massey G., Guerrero M.F., et al. Real-world use of emicizumab in patients with haemophilia A: Bleeding outcomes and surgical procedures. Haemophilia 2020; 26(4):631–636. DOI: 10.1111/hae.14005
10. Biron-Andreani C., Diaz-Cau I., Ranc A., Navarro R., Leonardi C., Dischino M., et al. Major surgery management in patients with haemophilia A and inhibitors on emicizumab prophylaxis without global coagulation monitoring. Br J Haematol 2020; 189 (3): e100–3. DOI: 10.1111/bjh.16512
11. Isaacs J., Welsby I.J., Schroder J.N., Onwuemene O.A. Activated Coagulation Time and Heparin Protamine Titration Device to Manage Unfractionated Heparin During Cardiopulmonary Bypass in a Hemophilia A Patient on Emicizumab. J Cardiothorac Vasc Anesth 2021; 35 (11): 3299–302. DOI: 10.1053/j.jvca.2020.08.058

# Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток: подготовительная терапия, характеристики трансплантата, критерии приживления и сопроводительная терапия

Д.Н. Балашов, Л.Н. Шелихова, М.А. Масчан

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

© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России  
Поступила 15.07.2022  
Принята к печати 22.08.2022

## Подготовительная терапия

Одним из важнейших этапов трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) является кондиционирование. Под этим термином понимают химиотерапию (иногда в сочетании с лучевой терапией), которую проводят пациентам перед инфузией гемопоэтических стволовых клеток (ГСК).

Основными задачами стандартного кондиционирования являются:

- эрадикация опухолевых клеток у пациентов со злокачественными заболеваниями;
- удаление иммунокомпетентных клеток для предотвращения отторжения трансплантата;
- удаление гемопоэза реципиента и увеличение количества «вакантных» ниш в костном мозге (КМ) для приживления донорских ГСК.

Как правило, протокол кондиционирования состоит из 2 основных компонентов:

- 1) миелосупрессивного компонента, состоящего из препаратов, мишенью для которых является гемопоэтическая ткань, включая ГСК;
- 2) лимфодеплетирующего компонента, состоящего из препаратов, таргетирующих лимфоидную систему реципиента.

Миелосупрессивный компонент кондиционирования, как правило, состоит из 1 или 2 алкилирующих препаратов, таких как бусульфан, треосульфат, мелфалан, тиофосфамид или др. Для лимфодеплеции могут использоваться циклофосфамид, флударабин, а также серотерапевтические агенты, в частности антитимоцитарный глобулин, анти-CD52<sup>+</sup> (алемтузумаб) и др.

Для достижения миело-/иммуноабляции может использоваться также лучевая терапия в виде тотального облучения тела. Кроме того, с помощью лучевой терапии можно обеспечить изолированный иммуноаблативный эффект, например, при использовании торакабдоминального облучения или тотального лимфоидного облучения.

В зависимости от дозы миелосупрессивных препаратов режимы кондиционирования принято классифицировать на миелоаблативные (МАК) и немиелоаблативные (НМК) или режимы со сниженной (редуцированной) интенсивностью (РИК).

НМК и РИК используются по определенным показаниям, чаще у взрослых пациентов с тяжелыми соматическими проблемами, для которых МАК может быть потенциально опасным с точки зрения рисков тяжелой токсичности. Задачами НМК является приживление трансплантата, а затем создание условий для дальнейшей иммуноопосредованной эрадикации остаточных клеток реципиента.

## Источники гемопоэтических стволовых клеток

Хотя ГСК содержатся в различных биологических субстратах, для клинических целей сегодня используются только КМ, периферическая кровь и пуповинная кровь (ПК). Одним из основных требований к любому клеточному продукту является возможность получения такого количества ГСК, которое способно обеспечить полное, стойкое и быстрое восстановление гемопоэтической функции у пациента.

Выбор источника ГСК для трансплантации у конкретного пациента зависит от клинического протокола, особенностей основного заболевания, наличия противопоказаний у донора к заготовке того или иного вида трансплантата. На выбор источника ГСК может повлиять также решение самого донора после получения информации об особенностях заготовки трансплантата.

Одним из ключевых факторов для использования различных источников ГСК являются предпочтения трансплантационного центра, обусловленные либо отработанной технологией, либо интегрированным в клинику клиническим протоколом, либо протоколом клинического исследования со своими строгими критериями.



Заготовка КМ осуществляется интраоперационно посредством эксфузии из задних гребней подвздошной кости [1]. Классическая процедура заготовки проводится посредством многократных вколов с аспирациями малых объемов (5–10 мл КМ). Некоторые клинические центры придерживаются собственных протоколов, в связи с чем объемы аспириатов в различных клиниках могут варьировать. Заготовленный КМ помещается в специальный контейнер с заранее подготовленным антикоагулянтом. Общий объем заготавливаемого трансплантата составляет 10–20 мл/кг массы тела (МТ) реципиента или донора (в случае, если вес реципиента превышает вес донора).

Заготовка стволовых клеток периферической крови (СКПК) проводится посредством афереза на автоматическом сепараторе. Эффективность процедуры зависит в первую очередь от содержания ГСК в циркуляторном русле, которое не является достаточным у донора при отсутствии его специальной подготовки. Для мобилизации стволовых клеток в периферическое русло используется гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ). Классическим способом мобилизации является использование Г-КСФ в дозе 8–12 мкг/кг в течение 5 последовательных дней, однако в настоящее время широко применяются и другие альтернативные схемы.

Получение качественного трансплантата у здоровых доноров после мобилизации с помощью Г-КСФ в большинстве случаев не представляет серьезной проблемы. Факторами риска неудачной мобилизации являются старший возраст донора, наличие диабета и низкий уровень тромбоцитов в периферической крови [2, 3]. Альтернативным методом мобилизации ГСК у донора при неудаче использования Г-КСФ является применение плериксафора, являющегося селективным блокатором хемокинового рецептора CXCR4. Данный рецептор находится на поверхности многих клеток, в том числе ГСК. Взаимодействие CXCR4 со своим лигандом (SDF-1 $\alpha$ ) способствует фиксации ГСК к строме КМ. Принцип мобилизации ГСК плериксафором основан на блокаде CXCR4 на ГСК, т. е. создании условий для невозможности фиксации гемопоэтических предшественников к строме, что в результате приводит к увеличению количества циркулирующего пула ГСК. Мобилизация посредством плериксафора широко используется для заготовки аутологичного трансплантата [4, 5]. Однако все чаще данный метод применяется и для мобилизации ГСК у здорового аллогенного донора [6].

Еще в начале 1970-х годов было показано, что в ПК новорожденного содержатся гемопоэтические колониобразующие клетки и высказано предполо-

жение, что они могут быть использованы для замещения гемопоэза [7]. Позднее в ряде исследований было продемонстрировано, что ПК содержит ГСК [8–10]. Заготовка ПК проводится во время родов с помощью специально отработанного алгоритма.

В большинстве случаев СКПК и КМ заготавливаются перед миелоинфузией, затем после ряда манипуляций (см. раздел «Манипуляции с клеточным продуктом») трансплантат трансфузируют пациенту через центральный венозный катетер, но не позднее, чем через 72 ч от заготовки.

ПК хранится в специализированных криохранилищах при температуре от –196°C. Размораживание осуществляется непосредственно перед инфузией.

### Оценка качества трансплантата

Одним из важных показателей качества трансплантата является количество CD34<sup>+</sup>-клеток. Для измерения их содержания используется метод проточной цитометрии. Для аутологичной ТГСК используется доза > 2,0 × 10<sup>6</sup> CD34<sup>+</sup>-клеток/кг МТ пациента, а для аллогенной ТГСК – ≥ 4,0 × 10<sup>6</sup> CD34<sup>+</sup>-клеток/кг МТ реципиента, если речь идет о КМ или СКПК в качестве источника ГСК.

Клеточные характеристики ПК значительным образом отличаются. Однако в связи с тем, что пролиферативная и колониобразующая активность гемопоэтических предшественников в ПК значительно выше (по сравнению с КМ), минимальной дозой принято считать 1,7 × 10<sup>5</sup> CD34<sup>+</sup>-клеток/кг МТ реципиента.

### Манипуляции с клеточным продуктом

После заготовки трансплантата с ним проводят ряд манипуляций, направленных на оптимизацию объема и клеточного состава полученного продукта. Базовым этапом процессинга является центрифугирование, необходимое для удаления эритроцитов и редукции конечного объема. В большинстве случаев этот этап необходим при подготовке к трансфузии или криопрезервации КМ и ПК [11].

Для оптимизации клеточного состава используются более сложные манипуляции. Для получения в качестве трансплантата продукта, состоящего в основном из фракции ГСК, используется селекция CD34<sup>+</sup>-клеток. Активно используются также методы «тонкой настройки» трансплантата, направленные на удаление из трансплантата тех или иных клеточных субпопуляций, например CD3<sup>+</sup>-деплеция, TCR $\alpha\beta$ -деплеция и др. Как для селекции, так и для деплеции используется иммуномагнитный метод, основанный на сортировке клеток с помощью моноклональных антител с магнитными метками, для чего применяется специальное автоматизированное оборудование.

Таким образом, современный трансплантат часто фактически является продуктом клеточной инженерии, подготовленным с учетом потребностей пациента и задач, которые ставит клиницист для обеспечения эффективности и безопасности ТГСК.

В отличие от аллогенной ТГСК после завершения процессинга трансплантат, приготовленный для аутологичной ТГСК, или ПК подвергаются замораживанию в специализированном хранилище. Для предотвращения кристаллизации цитоплазмы используется криопротектор диметилсульфоксид.

В большинстве случаев трансплантат для аллогенной ТГСК не подвергается криопрезервации, так как заготавливается непосредственно перед трансплантацией.

### **Трансфузия трансплантата**

Заготовка и окончание процессинга КМ и СКПК для аллогенной ТГСК синхронизируются по времени с окончанием кондиционирования пациента. В случае, если трансплантат был подвергнут криопрезервации, то его размораживание и подготовка также производятся после окончания кондиционирования непосредственно перед трансфузией пациенту.

Трансфузия трансплантата проводится пациенту через центральный венозный катетер. В данном подходе ключевую роль играет так называемый homing-effect (хоминг-эффект), присущий стволовой клетке, в основе которого лежит ее способность к миграции в строму КМ из сосудистого пространства благодаря своему рецепторному аппарату.

### **Критерии приживления трансплантата**

Период аплазии кроветворения после ТГСК варьирует от 10 до 25 дней. Однако в ряде случаев может регистрироваться как укорочение, так и значительное удлинение этих сроков. Удлинение может быть спровоцировано низким содержанием CD34<sup>+</sup> в трансплантате, вирусными инфекциями (в частности, цитомегаловирусом (ЦМВ)), бактериальным сепсисом, миелотоксичной терапией после ТГСК (например, циклофосфамид, ганцикловир) и др.

В литературе встречаются различные определения приживления трансплантата. Наиболее часто днем приживления нейтрофилов принято считать первый из 3 последовательных дней, когда их уровень в периферической крови достигал  $\geq 500 \times 10^6/\text{л}$  [12]. За день приживления тромбоцитов, как правило, принимают первый из 7 последовательных дней, когда их уровень в периферической крови составлял  $\geq 20 \times 10^9/\text{л}$  [13].

Для подтверждения приживления аллогенного трансплантата проводят лабораторную оценку химеризма. Под исследованием химеризма подразумевают выяснение генотипа клеток, участвующих в

гемопоезе у пациента после трансплантации. В том случае, если более 95% клеток крови или КМ имеют донорское происхождение, говорят о полном донорском химеризме, если  $> 50\text{--}95\%$  клеток являются донорскими, то данная лабораторная находка трактуется как преимущественно донорский химеризм, если только 10–50% клеток имеют донорский генотип, то говорят о преимущественно реципиентском химеризме, показатель менее 10% трактуется как отторжение трансплантата. При наличии от 10 до 95% донорских клеток используется термин «смешанный химеризм».

Исследование химеризма является важным диагностическим методом, необходимым для оценки эффективности ТГСК, а соответственно, и для контроля статуса заболевания. При некоторых незлокачественных заболеваниях стойкий смешанный химеризм является допустимой ситуацией, так как даже небольшого количества функционирующих донорских клеток бывает достаточно для эффективного контроля проявлений основного заболевания. Смешанный химеризм при гемобластозах может быть фактором, предрасполагающим к развитию рецидива заболевания, это важно учитывать. Как при злокачественных, так и при незлокачественных заболеваниях смешанный химеризм может также являться начальным признаком отторжения трансплантата, в связи с чем данная ситуация должна быть проанализирована и обсужден вопрос о целесообразности принятия некоторых терапевтических мер, таких как отмена иммуносупрессивной терапии, проведение инфузий донорских лимфоцитов и др.

### **Сопроводительная терапия при трансплантации гемопозитических стволовых клеток**

#### **ABO-групповая несовместимость и трансфузионная политика**

Не менее 20% пациентов имеют различия в ABO-групповой принадлежности с донором ГСК [14]. Такое несоответствие нередко становится причиной гемолитических осложнений у пациента после трансплантации.

Различают несколько вариантов групповой несовместимости между пациентом и донором ГСК по ABO-системе: большая (major), малая (minor) и смешанная (major + minor). Под большой (major) несовместимостью по ABO-системе подразумевают наличие в плазме у реципиента анти-А, анти-В или анти-AB аллоагглютининов, активных в отношении донорских эритроцитов, например, при проведении ТГСК от донора с группой крови A(II) пациенту с группой O(I). Малая (minor) несовместимость по ABO-системе обусловлена обратной ситуацией, т. е. наличием в плазме донора ГСК анти-А, анти-В или анти-AB аллоагглютининов, активных в отношении

эритроцитов реципиента, например, при ТГСК от донора с группой крови O(I) реципиенту с группой A(II). О смешанной (major + minor) несовместимости говорят в том случае, когда и у донора, и у реципиента анти-A, анти-B или анти-AB аллоагглютинины, активные в отношении эритроцитов реципиента и донора соответственно, например, при проведении ТГСК от донора с группой крови A(II) реципиенту с группой B(III).

В связи с вероятностью развития тяжелых осложнений, связанных с групповой ABO-несовместимостью донора и реципиента ГСК, существуют четко сформулированные правила проведения трансфузионной терапии после трансплантации (начиная с дня миелоинфузии), соблюдение которых является обязательным, начиная с дня проведения ТГСК и заканчивая периодом появления лабораторных доказательств, свидетельствующих о смене группы крови у реципиента на донорскую (таблица).

Цитомегаловирус чаще других известных герпес-вирусов становится причиной тяжелых и даже жизнеугрожающих инфекций, однако последние встречаются только у пациентов с выраженными дефектами иммунной системы, в том числе у реципиентов аллогенной ТГСК. В тех случаях, когда реципиент ГСК является изначально носителем ЦМВ, развитие у него висцеральной инфекции является результатом реактивации вируса. При ЦМВ-негативности реципиента и донора ГСК появление лабораторных и клинических признаков ЦМВ-инфекции связано с первичным инфицированием, нередко с трансмиссией вируса пациенту с компонентами крови [15]. В связи с тем, что трансмиттером ЦМВ-инфекции являются лейкоциты, одним из способов минимизации риска первичного заражения пациента является лейкодеплеция [16]. В настоящее время применение лейкофильтров является стандартной процедурой при отсутствии возможности применения ЦМВ-серонегативных продуктов крови.

Посттрансфузионная (ассоциированная с трансфузией компонентов крови) реакция «трансплантат против хозяина» (ПТ-РТПХ) – одно из наиболее тяжелых и в большинстве случаев фатальных осложнений у иммунокомпрометированных пациентов. В основе патогенеза развития ПТ-РТПХ лежат приживление трансфузированных вместе с компонентами крови Т-лимфоцитов, их дальнейшая активация, пролиферация и цитотоксическое поражение различных органов-мишеней реципиента, таких как кожа, печень, кишечник и КМ. В редких случаях ПТ-РТПХ может развиваться и у иммунокомпетентных пациентов, например, когда донор и реципиент имеют схожие HLA-гаплотипы.

Для профилактики ПТ-РТПХ используют гамма-облучение компонентов крови в дозе 25 Гр. Сегодня это стандартная процедура предтрансфузионной подготовки клеточных компонентов крови для использования их у пациентов, имеющих риск развития данного осложнения, в первую очередь у пациентов после ТГСК [17].

#### Профилактика реакции «трансплантат против хозяина»

Одним из наиболее серьезных осложнений ТГСК является РТПХ, в патогенезе которой центральную роль играют Т-клетки донора, и которая может стать причиной не просто тяжелых органических дисфункций, но и привести к инвалидизации и даже смерти пациента. Уже на предтрансплантационном этапе используется ряд мер, направленных на снижение риска развития данного осложнения. В частности, препараты специфических иммуноглобулинов, используемые в качестве серотерапии во время кондиционирования (антитимоцитарный глобулин, алемтузумаб), в первую очередь деплетируют лимфоциты самого пациента для снижения риска отторжения. Однако следует понимать, что длительный

Таблица

Правила проведения трансфузионной терапии у пациентов после ТГСК

Table

Transfusion support recommendations for hematopoietic stem cell transplant recipients

| ABO-несовместимость<br>ABO incompatibility | Реципиент<br>Recipient | Донор<br>Donor | Эритромасса<br>Packed red blood cells | Тромбоконцентрат и свежемороженная плазма<br>Platelet concentrate and fresh-frozen plasma |
|--------------------------------------------|------------------------|----------------|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| Большая<br>Major                           | O                      | A              | O                                     | A, AB                                                                                     |
|                                            | O                      | B              | O                                     | B, AB                                                                                     |
|                                            | O                      | AB             | O                                     | AB                                                                                        |
|                                            | A                      | AB             | A, O                                  | AB                                                                                        |
|                                            | B                      | AB             | B, O                                  | AB                                                                                        |
| Малая<br>Minor                             | A                      | O              | O                                     | A, AB                                                                                     |
|                                            | B                      | O              | O                                     | B, AB                                                                                     |
|                                            | AB                     | O              | O                                     | AB                                                                                        |
|                                            | AB                     | A              | A, O                                  | AB                                                                                        |
|                                            | AB                     | B              | B, O                                  | AB                                                                                        |
| Смешанная<br>Bidirectional                 | A                      | B              | O                                     | AB                                                                                        |
|                                            | B                      | A              | O                                     | AB                                                                                        |

период их полувыведения, а соответственно, отсроченный клиренс, является причиной сохранения их активной концентрации и после трансфузии трансплантата. Таким образом, их лимфодеплетизирующий эффект может распространяться и на донорский Т-лимфоидный компартмент.

Помимо иммуноаблативной терапии для редукции количества эффекторных лимфоцитов может использоваться метод иммуномагнитной селекции/деплеции трансплантата, основная задача которого заключается в редукции риска РТПХ при сохранении «полезных» свойств трансплантата. Использование таких технологий, как CD34<sup>+</sup>-селекция или TCR $\alpha\beta$ -деплеция, позволяет снизить необходимость дальнейшей медикаментозной терапии, направленной на профилактику РТПХ.

В большинстве случаев, особенно когда речь идет об использовании нативного трансплантата (с немодифицированными клеточными характеристиками), методы медикаментозной профилактики РТПХ в посттрансплантационный период являются обязательной частью терапии.

«Золотым стандартом» профилактики РТПХ долгое время считалось длительное использование циклоспорина А (CsA; не менее 4–6 мес после ТГСК с поддержанием целевой концентрации 150–200 нг/мл) в комбинации с коротким курсом метотрексата (Mtx; 15 мг/м<sup>2</sup> в день +1 и 10 мг/м<sup>2</sup> в дни +3, +6, +11).

В настоящее время активно используются альтернативные режимы: такролимус (TAC) + Mtx; CsA + микофенолата мофетил (MMF); TAC + MMF; TAC + сиролимус (SIR) и др.

Кроме того, активно исследуются режимы профилактики РТПХ с использованием тоцилизумаба (моноклональные гуманизированные антитела к рецептору IL-6) [18]. Есть данные об эффективности абатацепта (гибридная молекула, блокирующая CD80<sup>+</sup>/CD86<sup>+</sup> на антигенпрезентирующей клетке) [19].

Одной из широко используемых технологий посттрансплантационной профилактики РТПХ, в первую очередь при ТГСК от гаплоидентичного донора, является применение циклофосфамида в дозе 50 мг/кг в дни +3 и +4 после миелоинфузии с последующим использованием длительной терапии TAC + MMF [20].

### **Профилактика инфекций**

Инфекции являются серьезной проблемой и нередкой причиной заболеваемости и смертности детей после ТГСК. Частота встречаемости и выраженность инфекций напрямую коррелируют с объемом иммуносупрессивной терапии, уровнем нейтрофилов и темпами иммунорекогнитуции.

Сложности эффективного лечения выдвигают на первый план необходимость использования эффективной профилактики оппортунистических инфекций.

Основная задача – выбор профилактического агента высокой эффективности, безопасности, переносимости, экономической доступности и с низким потенциалом развития к нему резистентности микроорганизмов. Выбор препарата должен учитывать местную эпидемиологическую ситуацию в целях минимизации развития устойчивости.

Необходимость профилактического использования антибактериальной терапии противоречива, хотя используется в некоторых трансплантационных центрах. Контраргументом является высокая вероятность селекции устойчивых штаммов при назначении антибактериальной терапии в профилактическом режиме. Резистентные к антибиотикам патогены представляют собой новую проблему: сепсис, вызванный такими патогенами, ассоциирован с > 50% смертностью после ТГСК в педиатрии [21]. Эмпирическая антибактериальная терапия при необходимости проводится  $\beta$ -лактамым антибиотиком, активным в отношении *Pseudomonas*, но в любом случае необходима адаптация эмпирической терапии к локальным эпидемиологическим данным [22].

Профилактика пневмококковой инфекции является важным этапом после перехода трансплантационного пациента на амбулаторный режим наблюдения. Необходимость обусловлена функциональной асплией и иммунной дисрегуляцией. Именно поэтому пациенты после трансплантации длительное время могут нуждаться в использовании антибиотиков пенициллинового ряда или макролидов. Решение об отмене противопневмококковой профилактики принимается после завершения пневмококковой вакцинации (желательно обеспечить получение доказательств о патоген-специфической сероконверсии).

Инвазивные грибковые инфекции (ИГИ) являются одним из тяжелых осложнений ТГСК. По данным D.P. Kontoyiannis и соавт. [23], их частота варьирует от 8 до 10% при ТГСК от неродственного донора, 6% при ТГСК от сиблинга, менее 2% при аутологичной трансплантации, а наибольшее количество ИГИ (17%) регистрировалось при ТГСК от гаплоидентичного донора. Наибольший риск развития ИГИ отмечается в период аплазии, что обусловлено нейтропенией и нарушением барьерной функции слизистых на фоне мукозитов. В период от приживления трансплантата до дня +100 риски ИГИ связаны с острой РТПХ, вирусными инфекциями и глубоким нарушением Т-клеточного иммунитета. На более поздних сроках вероятность развития ИГИ невелика, однако эта проблема актуальна у пациентов с хронической РТПХ и отсроченной иммунорекогнитуцией.

В раннюю (нейтропеническую) фазу в клинических центрах с низкой частотой плесневых инфекций (< 5%) в целях противогрибковой профилактики

может быть рекомендован флуконазол. Однако его применение должно в обязательном порядке сопровождаться направленными на выявление ИГИ диагностическими подходами (исследование биомаркеров, компьютерная томография и т. д.). В клиниках с более высоким уровнем заболеваний плесневыми инфекциями рекомендуются альтернативные терапевтические подходы, а именно более активное использование вориконазола или итраконазола.

Профилактическое применение эхинокандинов (в частности, микафунгина) получило рекомендацию В-1 для центров с низким уровнем заболеваемости и С-1 для центров с высоким уровнем заболеваемости ИГИ.

Наиболее эффективная профилактика ИГИ у пациентов с РТПХ, как острой, так и хронической, может быть выполнена с помощью позаконазола с уровнем доказательности А-1.

Профилактика пневмоцистной пневмонии (*Pneumocystis Jiroveci*, ранее *Carinii*) является обязательной при проведении ТГСК. Встречаемость пневмоцистной пневмонии при аллогенной ТГСК без профилактики составляет 5–15%, а смертность может достигать 40%.

Пероральный ко-тримоксазол (сульфаметоксазол/триметоприм), назначаемый 2–3 раза в неделю, является препаратом выбора для первичной профилактики пневмоцистной инфекции и должен назначаться в течение всего периода наивысшего риска, как правило, от момента приживления и не менее 6 мес после ТГСК, либо до тех пор, пока пациенту проводится иммуносупрессивная терапия и отсутствует иммунореактивация.

Вирусные инфекции также являются частыми и иногда фатальными осложнениями после ТГСК. Профилактика ацикловиром рекомендуется всем реципиентам аллогенной ТГСК. Ацикловир начинают на день +1 в дозе 250 мг/м<sup>2</sup> 3 раза в сутки и продолжают около 4–6 мес после ТГСК. Условие отмены ацикловира – восстановление уровня CD4<sup>+</sup> > 200/мкл, CD19<sup>+</sup> > 50/мкл и отмена иммуносупрессивной терапии.

В связи с тем, что у пациента после ТГСК долгое время персистирует гипогаммаглобулинемия, одной из важных профилактических опций являются заместительные трансфузии препаратов внутривенных иммуноглобулинов (ВВИГ). ВВИГ применяются с момента ТГСК, а обоснованием для их назначения является снижение сывороточного IgG < 4 г/л. ВВИГ назначаются в дозе 500 мг/кг 1 раз в 2 нед до дня +90, затем 1 раз в месяц [24]. Основанием для прекращения заместительных трансфузий ВВИГ является комплекс следующих факторов: CD4<sup>+</sup> > 200/мкл и CD19<sup>+</sup> > 50/мкл в периферической крови, сохранение высокого уровня IgG (> 4 г/л) и независимость от трансфузий ВВИГ не менее 2 мес [25].

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

#### ORCID

**Balashov D.N.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2689-0569>

**Shelikhova L.N.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0520-5630>

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

## Литература

1. Thomas E.D., Storb R. Technique for human marrow grafting. *Blood* 1970; 36: 507–15
2. Kuittinen T., Nousiainen T., Halonen P., Mahlamaaki E., Jantunen E. Prediction of mobilization failure in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 2004; 33 (9): 907–12. DOI: 10.1038/sj.bmt.1704466
3. Ferraro F., Lympieri S., Mendez-Ferrer S., Saez B., Spencer J.A., Yeap B.Y., et al. Diabetes impairs hematopoietic stem cell mobilization by altering niche function. *Sci Transl Med* 2011; 3 (104): 104ra101. DOI: 10.1126/scitranslmed.3002191
4. Fowler C.J., Dunn A., Hayes-Lattin B., Hansen K., Hansen L., Lanier K., et al. Rescue from failed growth factor and/or chemotherapy HSC mobilization with G-CSF and plerixafor (AMD3100): an institutional experience. *Bone Marrow Transplant* 2009; 43: 909–17. DOI: 10.1038/bmt.2008.409
5. Sinha S., Gastineau D., Micallef I., Hogan W., Ansell S., Buadi F., et al. Predicting PBSC harvest failure using circulating CD34 levels: developing target-based cutoff points for early intervention. *Bone Marrow Transplant* 2011; 46: 943–9. DOI: 10.1038/bmt.2010.236
6. Балашов Д.Н., Курникова Е.Е., Масчан М.А., Скворцова Ю.В., Шелихова Л.Н., Трахтман П.Е. и др. Применение плериксафора для мобилизации гемопоэтиче-



- ских стволовых клеток у доноров аллогенного трансплантата. Онкогематология 2014; 9 (4): 24–7.
7. Knudtson S. *In vitro* growth of granulocytic colonies from circulating cells in human cord blood. Blood 1974; 43 (3): 357–61.
  8. Prindull G., Prindull B., Meulen N. Haematopoietic stem cells (CFUc) in human cord blood. Acta Paediatr Scand 1978; 67 (4): 413–6. DOI: 10.1111/j.1651-2227.1978.tb16347.x
  9. Fauser A.A., Messner H.A. Granuloerythropoietic colonies in human bone marrow, peripheral blood and cord blood. Blood 1978; 52 (6): 1243–8.
  10. Hassan M.W., Lutton J.D., Levere R.D., Rieder R.F., Cederqvist L.L. *In vitro* culture of erythroid colonies from human fetal liver and umbilical cord blood. Br J Haematol 1979; 41 (4): 477–84. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1979.tb05885.x
  11. Rowley S.D. Hematopoietic stem cell cryopreservation: a review of current techniques. J Hematother 1992; 1 (3): 233–50. DOI: 10.1089/scd.1.1992.1.233
  12. Wolff S.N. Second hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of graft failure, graft rejection or relapse after allogeneic transplantation. Bone Marrow Transplant 2002; 29 (7): 545–52. DOI: 10.1038/sj.bmt.1703389
  13. Teltschik H.-M., Heinzelmann F., Gruhn B., Feuchtinger T., Schlegel P., Schumm M., et al. Treatment of graft failure with TBI-based reconditioning and haploidentical stem paediatric patients. Br J Haematol 2016; 175 (1): 115–22. DOI: 10.1111/bjh.14190
  14. Worel N., Greinix H.T., Schneider B., Kurz M., Rabitsch W., Knöbl P., et al. Regeneration of erythropoiesis after related- and unrelated-donor BMT or peripheral blood HPC transplantation: a major ABO mismatch means problems. Transfusion 2000; 40 (5): 543–50. DOI: 10.1046/j.1537-2995.2000.40050543.x
  15. Bowden R.A., Sayers M., Gleaves C.A., Banaji M., Newton B., Meyers J.D. Cytomegalovirus-seronegative blood components for the prevention of primary cytomegalovirus infection after marrow transplantation. Considerations for blood banks. Transfusion 1987; 27 (6): 478–81. DOI: 10.1046/j.1537-2995.1987.27688071699.x
  16. Narvios A.B., de Lima M., Shah H., Lichtiger B. Transfusion of leukoreduced cellular blood components from cytomegalovirus-unscreened donors in allogeneic hematopoietic transplant recipients: analysis of 72 recipients. Bone Marrow Transplant 2005; 36 (6): 499–501.
  17. Балашов Д.Н., Трахтман П.Е. Особенности проведения трансфузионной терапии у пациентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Обзор литературы. Онкогематология 2013; 8 (3): 42–7.
  18. Dorobyski W.R., Szabo A., Zhu F., Keever-Taylor C., Hebert K.M., Dunn R., et al. Tocilizumab, tacrolimus and methotrexate for prevention of acute graft-versus-host disease: low incidence of lower gastrointestinal tract disease. Haematologica 2018; 103 (4): 717–27. DOI: 10.3324/haematol.2017.183434
  19. Радыгина С.А., Васильева А.П., Козловская С.Н., Шипицына И.П., Лившиц А.М., Гутовская Е.И. и др. Оценка эффективности использования абатацепта для профилактики острой реакции трансплантат против хозяина после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей с незлокачественными заболеваниями. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2019; 18 (2): 22–9. DOI: 10.24287/1726-1708-2019-18-2-22-29
  20. Luznik L., Fuchs E.J. High-dose, post-transplantation cyclophosphamide to promote graft-host tolerance after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Immunol Res 2010 47: 65–77.
  21. Caselli D., Cesaro S., Fagioli F., Carraro F., Ziino O., Zanazzo G., et al. Incidence of colonization and bloodstream infection with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in children receiving antineoplastic chemotherapy in Italy. Infect Dis (Lond) 2016; 48: 152–5.
  22. Lehrnbecher T., Robinson P., Fisher B., Alexander S., Ammann R.A., Beauchemin M., et al. Guideline for the management of fever and neutropenia in children with cancer and hematopoietic stem-cell transplantation recipients: 2017 update. J Clin Oncol 2017; 35: 2082–94.
  23. Kontoyannis D.P., Marr K.A., Park B.J., Alexander B.D., Anaissie E.J., Walsh T.J., et al. Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001–2006: overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. Clin Infect Dis 2010; 50: 1091–100.
  24. [Электронный ресурс] URL: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr4910a1.htm>. Дата обращения 12.08.2022.
  25. Балашов Д.Н. Актуальность и методы коррекции вторичной гипогаммаглобулинемии в клинической практике. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2019; 18 (3): 145–53.

© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ  
им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России  
Поступила 26.07.2022  
Принята к печати 29.08.2022

DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-126-135

# Клиническая характеристика пациентов с дефектами генов *SAMD9/SAMD9L*

А.Я. Аведова, И.В. Мерсиянова, А.В. Павлова, Э.Р. Султанова, У.Н. Петрова,  
Д.Н. Балашов, Л.Н. Шелихова, Е.В. Райкина, Д.Е. Першин, А.В. Пшонкин,  
Д.В. Федорова

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

## Контактная информация:

Аведова Асмик Яковлевна,  
врач-ординатор ФГБУ «НМИЦ ДГОИ  
им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России  
Адрес: 117997, Москва,  
ул. Саморы Машела, 1  
E-mail: asya.avedova95@mail.ru

Состояния, ассоциированные с дефектами в генах *SAMD9* и *SAMD9L*, – это относительно новая группа нозологий, характеризующихся разнообразным спектром клинических симптомов: от мультисистемного поражения в рамках синдрома MIRAGE до изолированных гематологических проявлений. Наличие отягощенного инфекционного анамнеза у данной группы пациентов до дебюта гематологических проявлений в большинстве случаев обусловлено дефектами иммунной системы. Герминальные мутации в генах *SAMD9/SAMD9L* с приобретением/изменением функции являются одними из наиболее распространенных факторов предрасположенности к педиатрическому миелодиспластическому синдрому (МДС) с моносомией 7-й хромосомы. Однако при наличии цитогенетических перестроек без признаков МДС в рамках синдромов *SAMD9/SAMD9L* возможна спонтанная ремиссия за счет различных компенсаторных клеточных механизмов. Наличие первичного иммунодефицитного состояния, предрасположенность к развитию МДС в раннем возрасте требуют более детального подхода к данной группе пациентов и раннего определения показаний для проведения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Родители пациентов подписали согласие на использование информации, в том числе фотографий детей, в научных исследованиях и публикациях.

**Ключевые слова:** *SAMD9/SAMD9L*, миелодиспластический синдром, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, первичный иммунодефицит, механизмы реверсии, аутовоспалительный синдром

Аведова А.Я. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022; 21 (3): 126–135. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-126-135

© 2022 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 26.07.2022  
Accepted 29.08.2022

## Clinical characteristics of patients with the *SAMD9/SAMD9L* gene defects

A.Ya. Avedova, I.V. Mersyanova, A.V. Pavlova, E.R. Sultanova, U.N. Petrova, D.N. Balashov, L.N. Shelikhova,  
E.V. Raykina, D.E. Pershin, A.V. Pshonkin, D.V. Fedorova

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

## Correspondence:

Asmik Ya. Avedova,  
a resident at the 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: asya.avedova95@mail.ru

Conditions associated with defects in the *SAMD9/SAMD9L* genes represent a relatively new group of diseases characterized by a diverse range of clinical manifestations: from multisystem disorders such as MIRAGE syndrome to isolated hematological manifestations. A previous history of infectious diseases in patients with *SAMD9/SAMD9L* gene defects before the onset of hematological manifestations is in most cases associated with the defects of the immune system. Gain- or change-of-function germline mutations in the *SAMD9/SAMD9L* genes are the most common predisposition factors for pediatric myelodysplastic syndrome (MDS) with monosomy 7. However, *SAMD9/SAMD9L* patients with cytogenetic rearrangements but without any signs or symptoms of MDS can have spontaneous remission due to various compensatory cellular mechanisms. The presence of primary immunodeficiency and a predisposition to MDS at an early age requires a more detailed approach to this group of patients and early determination of indications for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. The patients' parents gave their consent to the use of their child's data, including photographs, for research purposes and in publications.

**Key words:** *SAMD9/SAMD9L*, myelodysplastic syndrome, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, primary immunodeficiency, mechanisms of reversion, autoinflammatory syndrome

Avedova A.Ya., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (3): 126–135.  
DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-126-135

Состояния с дефектами генов *SAMD9* и *SAMD9L* относятся к первичным иммунодефицитам (ПИД) с аплазией кроветворения [1] и сочетают в себе черты гематологических и иммунологических заболеваний, а также широкий спектр клинических проявлений, обусловленных поражением других органов [2]. Оба гена расположены тандемно на 7-й хромосоме. Первые попытки изучения клинической картины и молекулярно-генетических характеристик пациентов с дефектом в гене *SAMD9* были

предприняты в работах S. Narumi и соавт. в 2016 г. Исследователи отобрали группу пациентов детского возраста с синдромальной формой гипоплазии надпочечников, у которых по результатам полного секвенирования экзона были выявлены различные гетерозиготные варианты в гене *SAMD9* [2]. Кодированный им одноименный белок *SAMD9* (sterile  $\alpha$  motif domain 9) состоит из 1589 аминокислотных остатков. Его гомологом является белок *SAMD9L* [3]. Функцией белков *SAMD9/SAMD9L* является ограничение проли-

ферации и роста клеток (опухолевая супрессия). Данная функция осуществляется посредством передачи сигнала через рецептор фактора роста клеток, а также при их участии в транспорте внутриклеточных везикул (эндосом) [2, 4], в том числе и при воздействии провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  [3]. В экспериментах было продемонстрировано, что в фибробластах кожи пациентов с гетерозиготными миссенс-мутациями в гене *SAMD9* экспрессия рецептора эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFR) ниже в сравнении со здоровым образцом [2]. При изучении пролиферативной активности клеточной линии HEK293, трансдуцированной вектором с мутантным геном *SAMD9*, было выявлено снижение роста соответствующей клеточной популяции [3]. Также было показано, что внутриклеточные везикулы у пациентов с дефектом *SAMD9* обладают более крупными размерами по сравнению со здоровым контролем, что может свидетельствовать о влиянии белка *SAMD9* на слияние эндосом и рециркуляцию клеточных рецепторов посредством эндосом [2, 4].

Все генетические варианты в генах *SAMD9/SAMD9L* с функциональной точки зрения могут быть разделены на 2 основные группы: варианты с приобретением/изменением функции гена (gain of function, GOF) и варианты с потерей функции гена (loss of function, LOF). Варианты GOF, как правило, представлены герминальными *de novo* миссенс-мутациями в гетерозиготном состоянии [3]. Замены в гене *SAMD9* с эффектом GOF сопровождаются избыточным антипролиферативным эффектом соответствующего белка. Гомозиготные мутации в гене *SAMD9* были выявлены у пациентов с семейным опухолевым кальцинозом [5].

В вышеупомянутом исследовании S. Narumi и соавт. [2] 6 из 11 пациентов погибли в раннем возрасте от тяжелых инфекций, еще 2 – от осложнений в результате развития миелодиспластического синдрома (МДС) с моносомией 7-й хромосомы. У 9 пациентов отмечалась тяжелая энтеропатия неспецифической этиологии. При гистологическом исследовании аутопсийного материала 2 пациентов из данной когорты была выявлена гипоплазия надпочечников (с включением пенистых клеток), половых желез и тимуса [2].

В крупном исследовании F. Buonocore и соавт. описаны 8 пациентов с GOF-мутациями в гене *SAMD9* [3]. Один пациент погиб внутриутробно на 28-й неделе гестации, остальные родились недоношенными с тяжелой задержкой внутриутробного развития. У всех пациентов отмечались нарушения строения наружных половых органов: при наличии мужских первичных половых органов (яичек) в большинстве случаев наружные половые органы были сформированы по

женскому типу. Тяжелая надпочечниковая недостаточность была выявлена у 6 пациентов. У всех родившихся живыми детей из данной выборки в первые месяцы жизни отмечались тяжелые бактериальные и вирусные инфекционные осложнения, энтеропатия с тяжелым диарейным синдромом. У всех пациентов из данной выборки, переживших первые 3 месяца жизни, была выявлена моносомия 7-й хромосомы или делеция ее длинного плеча [3].

На основании данных клинической картины у пациентов, описанных в 2 вышеупомянутых исследованиях, мультисистемный характер поражения органов и тканей вследствие GOF-мутации в гене *SAMD9* получил название MIRAGE-синдрома, от английской аббревиатуры: M – myelodysplasia (миелодисплазия), I – infections (инфекции), R – restriction of growth (дефект роста), A – adrenal hypoplasia (гипоплазия надпочечников), G – genital phenotypes (нарушение полового развития), E – enteropathy (энтеропатия) [2, 3]. Подобный клинический фенотип хорошо коррелирует с паттерном экспрессии белка *SAMD9*, которая отлична в разных органах и тканях. Так, наибольшая экспрессия белка *SAMD9* отмечается в надпочечниках, толстой кишке и костном мозге [3].

Другие редкие морфологические признаки, зарегистрированные у отдельных пациентов, включают: скелетные аномалии (сколиоз, контрактуры суставов), потерю слуха, дисморфические черты лица, камптодактилию, гломерулярную протеинурию [6].

По данным литературы, клиническая картина пациентов с дефектом в гене *SAMD9L* характеризуется более легким фенотипом, но возможным наличием тяжелой неврологической симптоматики (мозжечковая атаксия, пирамидные знаки, атрофия белого вещества головного мозга) и цитопении различной степени выраженности [6]. Патогенез неврологических проявлений является до конца не изученным, предполагается повышенная экспрессия *SAMD9L* в клетках Пуркинье [7].

GOF-мутации в *SAMD9/SAMD9L* приводят к подавлению пролиферации клеток. Поэтому предполагается, что соматические мутации, приводящие к элиминации копии гена *SAMD9* с герминальной GOF-мутацией, дают селективные преимущества таким клонам клеток в гемопоэзе. Таким соматическим адаптивным механизмом может являться как делеция длинного плеча 7-й хромосомы с локализованным на ней мутантным вариантом гена *SAMD9* [8], так и соматические точковые мутации в той же копии гена (в цис-положении), приводящие к потере его функции (мутации сдвига рамки считывания, появление преждевременного стоп-кодона) [9].

Частота встречаемости детского МДС у пациентов с герминальными мутациями в генах *SAMD9/SAMD9L*, по разным данным, составляет 8–17% [9, 10]. Именно с адаптивными механизмами, направленными на восстановление клеточной пролиферации, связывают патогенез МДС у пациентов с герминальными GOF-мутациями в *SAMD9/SAMD9L*. К числу таких механизмов относятся моносомия 7-й хромосомы, однородительская изодисомия длинного плеча 7-й хромосомы, появление соматической реверсивной мутации с потерей функции в цис-положении (рисунки 1). Большинство из этих механизмов могут поддерживать адаптивный гемопоэз длительное время. Согласно данным литературы, одним из триггерных факторов дезадаптации гемопоэза может являться мощный интерфероновый стимул. К одному из клинических состояний, сопровождающихся повышением уровня провоспалительных цитокинов в крови, в частности IFN- $\gamma$ , относится острая респираторная вирусная инфекция [11].

Одним из проявлений избыточной функции белков *SAMD9/SAMD9L* при генетических вариантах GOF является нарушение сборки рибосом в гемопоэтических стволовых клетках, т. е. развитие рибосомного стресса. Следствием нарушения синтеза белка в клетках является преждевременный апоптоз, ведущий к развитию синдрома костномозговой недостаточности [12].

**Рисунок 1**  
Механизмы реверсии, ассоциированные с GOF-мутациями *SAMD9/SAMD9L* [11]

Wild-type – дикий тип; GOF mutation – мутация с приобретением функции в гене; LOF mutation – мутация с потерей функции в гене

**Figure 1**  
Reversion mechanisms associated with GOF *SAMD9/SAMD9L* mutations [11]  
GOF mutation – gain-of-function mutation; LOF mutation – loss-of-function mutation



Хотя характерным и доказанным молекулярно-генетическим механизмом патогенеза предрасположенности к МДС являются герминальные GOF-мутации в генах *SAMD9/SAMD9L*, в нескольких работах также описаны как патогенные генетические варианты, приводящие к потере функции этих генов (LOF) [10, 13–15].

При наличии герминальных LOF-вариантов в *SAMD9/SAMD9L* развитие МДС связывают с воздействием экзогенных триггерных факторов на избыточно пролиферирующую популяцию клеток или возникновение вторичных соматических событий (рисунки 2) [13]. Однако следует отметить, что в международной базе данных популяционных частот генетических вариантов человека gnomAD (Genome Aggregation Database) не прослеживается снижение наблюдаемой частоты герминальных вариантов LOF в гене *SAMD9* по сравнению с теоретически рассчитанной, а в гене *SAMD9L* она снижена незначительно. Также не наблюдается снижение частоты встречаемости вариантов LOF в возрастной группе доноров старше 60 лет по сравнению с более молодыми. Эти данные косвенно свидетельствуют в пользу незначительного клинического эффекта герминальных LOF-вариантов в *SAMD9*, а герминальные LOF-варианты в гене *SAMD9L*, скорее всего, должны рассматриваться как факторы риска, чем как каузативные мутации.

Учитывая большую роль белка *SAMD9* в пролиферативном потенциале предшественников иммуокompetентных клеток, существует высокий риск развития врожденных дефектов иммунной системы при нарушении его функции. По данным литературы, имеется множество сообщений о наличии тяжелых инфекционных осложнений у пациентов раннего возраста с дефектом *SAMD9/SAMD9L* [2, 3, 16].

В исследовании S. Narumi и соавт. [2] у нескольких пациентов было продемонстрировано снижение числа В-лимфоцитов и дегрануляции NK-клеток. O. Bluteau и соавт. сообщают о гипогаммаглобулинемии у 2 из 6 описанных пациентов [16].

R. Formankova и соавт. сообщают о клиническом случае пациента грудного возраста с генерализованной цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекцией и панцитопенией с первых месяцев жизни [17]. При иммунологическом исследовании у данного пациента были выявлены следующие изменения: снижение абсолютного количества В-лимфоцитов, преобладание пула Т-клеток памяти над наивным пулом, отсутствие ЦМВ-специфических Т-клеток, сниженный митогенный ответ лимфоцитов, гипогаммаглобулинемия, сниженные значения TREC/KREC. Данный пациент погиб от инфекционных осложнений через 1,5 года после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК).



Патогенный дефект в гене *SAMD9* был выявлен ретроспективно по результатам пересмотра проведенного ранее молекулярно-генетического исследования [17].

Описаны случаи успешного применения регулярной заместительной терапии внутривенным иммуноглобулином у пациентов с гипогаммаглобулинемией и высокой частотой тяжелых инфекционных осложнений [18]. Для дефекта в гене *SAMD9L* характерно наличие количественного дефицита NK-клеток и моноцитов вследствие повышенной экспрессии в них соответствующего белка [19].

По данным литературы, герминальные мутации в гене *SAMD9L* со сдвигом рамки считывания были также обнаружены у нескольких детей с аутовоспалительным панникулитом, напоминающим хронический атипичный нейтрофильный дерматоз с липодистрофией и периодической лихорадкой (Chronic Atypical Neutrophilic Dermatositis with Lipodystrophy and Elevated Temperature, CANDLE) [20].

В качестве основных терапевтических опций могут быть рассмотрены симптоматическая терапия при наличии ряда соматических проблем, транс-

плантация гемопоэтических стволовых клеток при развитии тяжелой костномозговой недостаточности, МДС, тяжелое иммунодефицитное состояние [21]. По данным S. Sahoo и соавт., проведение алло-ТГСК пациентам с герминальными мутациями в генах *SAMD9/SAMD9L* в связи с развитием МДС имело удовлетворительные результаты с 5-летней выживаемостью 85% [21].

В одном из последних исследований [22] приведены данные о выполнении алло-ТГСК у 12 пациентов с дефектом *SAMD9/SAMD9L*. Показанием к проведению трансплантации в 83% случаев ( $n = 10$ ) являлось развитие МДС с моносомией 7-й хромосомы. На основании проведенного анализа было показано, что у 4 пациентов, имевших до алло-ТГСК симптомы MIRAGE (энтеропатия, надпочечниковая недостаточность, нефропатия), имеющиеся негематологические проявления сохранялись и после трансплантации [22].

Несмотря на некоторое число описанных клинических случаев, дефекты *SAMD9/SAMD9L* являются редкими иммуногематологическими заболеваниями.

В данной работе представлена клиническая характеристика 2 пациентов с генетически верифициро-

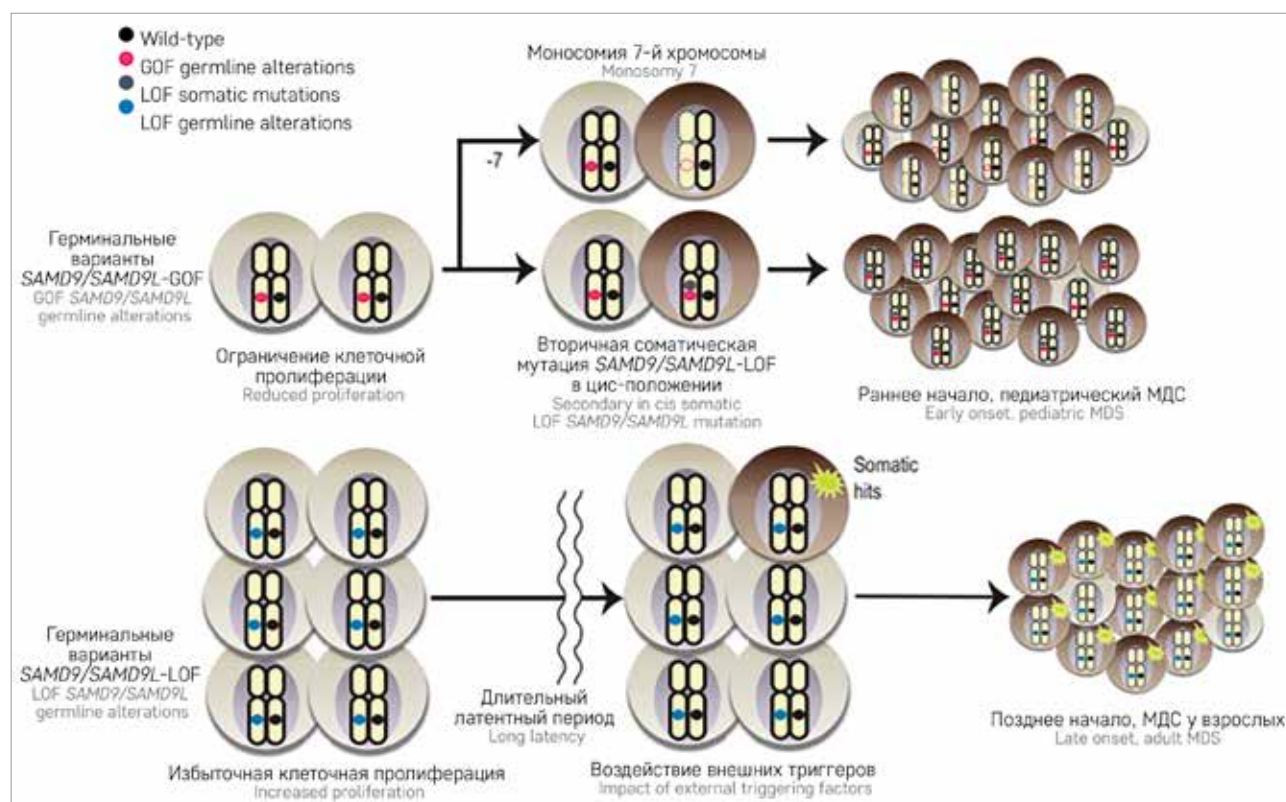
## Рисунок 2

Схема патогенеза развития МДС при герминальных гетерозиготных мутациях в генах *SAMD9/SAMD9L* в зависимости от функционального эффекта соответствующих генетических вариантов (адаптировано из Y. Nagata et al., 2018)

GOF germline alterations – герминальный вариант с усилением функции в гене; LOF somatic mutations – соматическая мутация с потерей функции в гене; LOF germline alterations – герминальный вариант с потерей функции в гене

Figure 2

Pathogenesis of myelodysplastic syndrome (MDS) associated with germline heterozygous *SAMD9/SAMD9L* mutations depending on the functional effect of the corresponding genetic variants (adapted from Y. Nagata et al., 2018)  
GOF germline alterations are germline variants leading to the enhancement of function in a gene; LOF somatic mutations are somatic mutations leading to the loss of function in a gene; LOF germline alterations are germline alterations leading to the loss of function in a gene





ванными диагнозами – дефектами в генах *SAMD9* и *SAMD9L*. Родители пациентов подписали согласие на использование информации, в том числе фотографий детей, в научных исследованиях и публикациях.

### КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ №1

Мальчик, 2014 года рождения, от первой беременности, первых оперативных родов путем экстренного кесарева сечения на сроке 35 недель в связи с задержкой внутриутробного развития. Ранний неонатальный период протекал без особенностей. С 3-месячного возраста по результатам планового лабораторного обследования у пациента отмечались умеренная тромбоцитопения (число тромбоцитов 39–178 тыс/мкл) и минимальная нейтро-

**Таблица 1**  
Показатели сывороточных иммуноглобулинов пациента 1

**Table 1**  
Serum immunoglobulin levels in patient 1

| Показатель<br>Parameter                        | Результат<br>Result | Норма<br>Normal range |
|------------------------------------------------|---------------------|-----------------------|
| Иммуноглобулин А, г/л<br>Immunoglobulin A, g/L | 1,75                | 0,9–1,9               |
| Иммуноглобулин М, г/л<br>Immunoglobulin M, g/L | 1,05                | 0,8–1,9               |
| Иммуноглобулин G, г/л<br>Immunoglobulin G, g/L | 8,8                 | 8,7–11,7              |

**Таблица 2**  
Результаты иммунофенотипирования лимфоцитов пациента 1

**Table 2**  
Lymphocyte immunophenotyping results of patient 1

| Показатель<br>Parameter                                                                                                                                                                                              | Результат<br>Result | Норма<br>Normal range |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-----------------------|
| CD3 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /мл<br>CD3 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /mL                                                                                                                                 | 1,98                | 1,4–2                 |
| CD4 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /мл<br>CD4 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /mL                                                                                                                                 | 0,87                | 0,7–1,1               |
| CD8 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /мл<br>CD8 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /mL                                                                                                                                 | 1,06                | 0,6–0,9               |
| CD19 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /мл<br>CD19 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /mL                                                                                                                               | 0,06                | 0,3–0,5               |
| NK-клетки, × 10 <sup>9</sup> /мл<br>NK-cells, × 10 <sup>9</sup> /mL                                                                                                                                                  | 0,07                | 0,09–1,33             |
| Switched B memory cells<br>(IgD <sup>+</sup> IgM <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup> ), × 10 <sup>9</sup> /мл<br>Switched B memory cells<br>(IgD <sup>+</sup> IgM <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup> ), × 10 <sup>9</sup> /mL | 0,005               | 0,04–0,1              |

**Таблица 3**  
Динамика показателей гемограммы пациента 1

**Table 3**  
Complete blood count changes in patient 1 over time

| Дата проведения исследования<br>Date of testing | WBC, 10 <sup>9</sup> /л<br>WBC, 10 <sup>9</sup> /L | HGB, г/л<br>HGB, g/L | PLT, 10 <sup>9</sup> /л<br>PLT, 10 <sup>9</sup> /L | NEUT, 10 <sup>9</sup> /л<br>NEUT, 10 <sup>9</sup> /L | LYMPH, 10 <sup>9</sup> /л<br>LYMPH, 10 <sup>9</sup> /L |
|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| Норма<br>Normal range                           | 6,05–9,85                                          | 115–138              | 204–356                                            | 1,5–8,5                                              | 1,5–7                                                  |
| 21.12                                           | 3,16                                               | 92                   | 137                                                | 0,44                                                 | 2,48                                                   |
| 30.12                                           | 3,73                                               | 98                   | 42                                                 | 0,33                                                 | 3,28                                                   |
| 08.01                                           | 2,2                                                | 87                   | 25                                                 | 0,03                                                 | 1,99                                                   |
| 17.01                                           | 2,44                                               | 77                   | 34                                                 | 0,12                                                 | 2,22                                                   |
| 30.01                                           | 2,02                                               | 84                   | 51                                                 | 0,09                                                 | 1,89                                                   |
| 06.02                                           | 2,46                                               | 77                   | 18                                                 | 0,11                                                 | 2,23                                                   |

Примечание. WBC – лейкоциты; HGB – гемоглобин; PLT – тромбоциты; NEUT – нейтрофилы; LYMPH – лимфоциты.  
Note. WBC – white blood cells; HGB – hemoglobin; PLT – platelets; NEUT – neutrophils; LYMPH – lymphocytes.

пения (число нейтрофилов ~ 1 тыс/мкл). Обращал на себя внимание отягощенный инфекционный анамнез пациента: рецидивирующие гнойные отиты с раннего возраста, частые острые респираторные вирусные инфекции (более 10 раз в год), 2 эпизода пневмонии. Физическое развитие пациента соответствовало возрасту, однако его соматический статус был отягощен наличием следующих особенностей: с возраста 2 месяцев отмечалась протеинурия (предположительно гломерулярного характера), с раннего возраста – проявления энтеропатии в виде энтероколита разной степени выраженности.

По результатам проведенного иммунологического обследования в возрасте 7 лет уровень иммуноглобулина G на нижней границе возрастной нормы (таблица 1). По данным иммунофенотипирования отмечается снижение субпопуляций В-лимфоцитов (общих В-клеток и В-клеток памяти IgD<sup>+</sup>IgM<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>), что может свидетельствовать о нарушении специфического анти-телообразования (таблица 2). В остальном показатели иммунограммы были без особенностей.

Примечательным является развитие у пациента с возраста 6 лет клинических проявлений, соответствующих аутовоспалительному фенотипу: периодические артралгии крупных суставов, эпизоды фебрильной лихорадки без видимых очагов инфекции с выраженной воспалительной активностью в крови (С-реактивный белок 115 мг/л) с ответом на анти-цитокиновую терапию блокатором интерлейкина-6 (тоцилизумаб).

В возрасте 6 лет по данным контрольных гемограмм у пациента была выявлена трехкратная цитопения (таблица 3). В возрасте 7 лет в миелограмме морфологическая картина соответствует аплазии кроветворения, по данным цитогенетического исследования костного мозга выявлена моносомия 7-й хромосомы в 90% ядер клеток.

По результатам молекулярно-генетического исследования у пациента выявлено 2 генетических варианта в гене *SAMD9*:

1) миссенс-мутация: с.4598G>A p.Arg1533Gln в гетерозиготном состоянии. Данная замена обнару-

жена в клетках крови и в негемопоэтических клетках организма (фибробласты), что подтверждает ее герминальное происхождение. Вариант не зарегистрирован в популяционных выборках gnomAD и ранее не описан в литературе как патогенный. Различные компьютерные алгоритмы – предикторы эффекта замены аминокислоты – дают противоречивые данные в отношении патогенности данной замены. Вариант отсутствует у родителей пациента и таким образом является мутацией *de novo*, поэтому классифицируется как вероятно патогенный вариант;

2) миссенс-мутация: c.2743G>A p.(Ala915Thr) в гетерозиготном состоянии. Данная мутация обнаружена только в клетках крови, но отсутствует в негемопоэтических клетках организма, а также не найдена у родителей пациента. Вариант не описан в литературе и не имеет популяционных частот, однако другая замена в этом же кодоне (p.Ala915Ser) зарегистрирована в gnomAD у 2 условно здоровых доноров в возрасте 45–55 лет. Большинство программ-предикторов характеризуют замену p.(Ala915Thr) как нейтральную. Установить цис- или транс-положение данной соматической мутации относительно герминального варианта с помощью доступных технических средств не представляется возможным. По совокупности вариант рассматривается как имеющий неясное значение в отношении патогенеза МДС у пациента.

Учитывая данные генетического исследования, клинической картины – неполный симптомокомплекс синдрома MIRAGE (развитие МДС в возрасте 7 лет, инфекции в рамках первичного иммунодефицитного состояния, энтеропатия, гломерулярная протеинурия), мы предполагаем, что герминальная мутация *de novo* p.(Arg153Gln) в *SAMD9* является патогенным вариантом с приобретением/изменением функции. Однако для подтверждения клинической значимости данного варианта необходимо проведение более глубокого функционального и молекулярно-генетического исследования.

В связи с развитием МДС в рамках основного заболевания пациенту была проведена алло-ТГСК от гаплоидентичного донора (отца) с процессингом трансплантата в виде TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеции. Как было сказано выше, мутаций в гене *SAMD9* у отца пациента выявлено не было.

Пациенту было проведено миелоаблативное кондиционирование в составе: треосульфан 42 мг/м<sup>2</sup>, флударабин 150 мг/м<sup>2</sup>, тимоглобулин 5 мг/кг, мелфалан 140 мг/м<sup>2</sup>, ритуксимаб 200 мг.

Приживление тромбоцитарного и гранулоцитарного ростков было зафиксировано в стандартные сроки.

Ранний посттрансплантационный период был отягощен наличием комплекса иммунных и инфек-

ционных осложнений: острая реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) с поражением кожи III степени, кишечника III степени, облитерирующий бронхолит, энтероколит смешанной этиологии (энтеропатия в рамках основного заболевания, инфекционно-токсический шок, РТПХ), двусторонняя пневмония смешанной этиологии, септический шок. Пациенту проводилась комбинированная противомикробная и иммуносупрессивная терапия (курс терапии: глюкокортикостероиды 2–5 мг/кг/сут, абатацепт 10 мг/кг, тоцилизумаб 162 мг подкожно, этанерцепт 0,8 мг/кг).

На фоне проводимой терапии соматический статус пациента стабилизировался, проявления острой РТПХ кожи разрешились. Однако в раннем посттрансплантационном периоде у пациента сохраняются проявления тяжелого энтероколита и изолированной протеинурии, что может быть связано с инициальным поражением кишечника и гломерулярного аппарата почек в рамках синдрома MIRAGE.

По результатам контрольного обследования на +30-е сутки от алло-ТГСК трансплантат функционирует, химеризм полностью донорский, сохраняется ремиссия со стороны МДС (цитогенетических перестроек в костном мозге не выявлено).

## КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ №2

Девочка, 2018 года рождения, с возраста 1,5 месяца при плановом обследовании была диагностирована двухростковая цитопения: анемия (гемоглобин 69 г/л), тромбоцитопения (тромбоциты 7 тыс/мкл). По данным морфологического исследования костного мозга выявлено сужение всех ростков кроветворения, цитогенетических перестроек не выявлено.

Инфекционный статус пациентки был отягощен течением клостридиального колита, также было детектировано наличие ЦМВ-виремии (791 коп/мл).

Пациентке проводилась терапия в следующем объеме: заместительные гемотрансфузии, внутривенный иммуноглобулин, комплексная противинфекционная терапия.

По результатам проведенного иммунологического обследования в возрасте 2 месяцев: TREC в пределах возрастной нормы, KREC резко снижен; по результатам иммунофенотипирования отмечается снижение CD19<sup>+</sup> В-лимфоцитов по сравнению с возрастной нормой (таблица 4). Значения сыровороточных иммуноглобулинов определены через неделю после заместительной терапии внутривенными иммуноглобулинами (таблица 5).

В возрасте 11 месяцев в связи с сохраняющейся цитопенией было проведено повторное цитогенетическое исследование костного мозга, выявлена моносомия 7-й хромосомы.

**Таблица 4**  
Результаты иммунофенотипирования лимфоцитов пациентки 2

Table 4  
Lymphocyte immunophenotyping results of patient 2

| Показатель<br>Parameter                                                                | Результат<br>Result | Норма<br>Normal range |
|----------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-----------------------|
| CD3 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /мл<br>CD3 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /mL   | 2,049               | 2,28–6,45             |
| CD4 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /мл<br>CD4 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /mL   | 1,490               | 1,69–4,60             |
| CD8 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /мл<br>CD8 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /mL   | 0,506               | 0,72–2,49             |
| CD19 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /мл<br>CD19 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /mL | 0,37                | 0,5–1,5               |
| NK-клетки, × 10 <sup>9</sup> /мл<br>NK-cells, × 10 <sup>9</sup> /mL                    | 0,1                 | 0,09–1,33             |

**Таблица 5**  
Показатели сывороточных иммуноглобулинов пациентки 2

Table 5  
Serum immunoglobulin levels in patient 2

| Показатель<br>Parameter                        | Результат<br>Result | Норма<br>Normal range |
|------------------------------------------------|---------------------|-----------------------|
| Иммуноглобулин А, г/л<br>Immunoglobulin A, g/L | 0,4                 | 0,1–0,2               |
| Иммуноглобулин М, г/л<br>Immunoglobulin M, g/L | 0,5                 | 0,4–1,2               |
| Иммуноглобулин G, г/л<br>Immunoglobulin G, g/L | 15,8                | 3,3–9,1               |

По результатам молекулярно-генетического исследования выявлена миссенс-мутация в гене *SAMD9L* с.4534G>A р.Val1512Met в гетерозиготном состоянии. Данная замена была также выявлена в ДНК из ногтей пациентки, таким образом мутация является герминальной. У родителей пациентки по результатам секвенирования по Сэнгеру данный вариант не обнаружен, что доказывает происхождение мутации *de novo*. Вариант был ранее описан в литературе как патогенный у пациентки с семейным МДС и транзитной моносомией 7 [23]. В другой работе вариант был описан как герминальный патогенный у мальчика с МДС, моносомией 7 и неврологической симптоматикой (макроцефалия, аномалия Денди-Уокера, транзиторные церебральные судороги) [10]. У данного пациента была также выявлена соматическая LOF-мутация в *SAMD9L* в цис-положении, а также соматические мутации в генах *KRAS*, *ETV6*, *EZH2*, *SETBP1*.

Таким образом, развитие МДС у ребенка грудного возраста может являться следствием обнаруженного генетического дефекта. Обнаруженные изменения по данным иммунологического обследования могут свидетельствовать о врожденном дефекте иммунной системы в рамках основного заболевания.

В возрасте 1 года пациентке была проведена аллотГСК от гаплоидентичного донора (мать) с процессингом трансплантата в виде TCRαβ-/CD19-деплеции.

Пациентке было проведено миелоаблативное кондиционирование в составе: треоосульфат 42мг/м<sup>2</sup>, флударабин 150 мг/м<sup>2</sup>, тиотепа 10 мг/кг, тоцилизумаб 8 мг/кг, абатацепт 10 мг/кг, ритуксимаб 100 мг/м<sup>2</sup>;

посттрансплантационная профилактика РТПХ: бортезомиб и абатацепт. Приживление тромбоцитарного и гранулоцитарного ростков было зафиксировано в стандартные сроки.

В посттрансплантационном периоде у пациентки отмечалось развитие генерализованной ЦМВ-инфекции (виремия, пневмония, хориоретинит), которая разрешилась на терапии ганцикловиром.

Из иммунных осложнений в посттрансплантационном периоде отмечены: острая РТПХ кожи II степени (разрешилась на фоне местной терапии стероидами и системной терапии циклоспорином А), РТПХ желудка (верхнекишечная симптоматика нивелировалась на фоне терапии буденофальком), воспалительный синдром иммунного восстановления с поражением легких на фоне ЦМВ-инфекции.

По результатам контрольного обследования у пациентки на +180-е сутки отмечен полностью донорский химеризм, достигнута иммунная реконституция, сохраняется ремиссия со стороны МДС.

В таблице 6 представлена сводная клиническая характеристика описанных выше пациентов.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническая картина пациентов с генетически верифицированными дефектами в генах *SAMD9/SAMD9L* характеризуется полиморфизмом проявлений: от синдромальных форм с фенотипом MIRAGE до изолированных гематологических проявлений с исходом в МДС.

Наличие отягощенного инфекционного анамнеза, аутовоспалительные проявления, изменения в иммунологическом статусе позволяют сделать вывод о наличии врожденных дефектов иммунной системы у данной группы пациентов [6]. Кроме того, описаны клинические случаи пациентов с клинико-лабораторным фенотипом комбинированной иммунной недостаточности с верифицированной патогенной мутацией в гене *SAMD9* [17].

В описанных нами случаях клиника неполного симптомокомплекса MIRAGE наблюдалась у пациента мужского пола, в то время как у девочки отсутствовали какие-либо проявления синдромальной патологии, однако развился МДС в грудном возрасте.

При сопоставлении данных клинической картины с результатами молекулярно-генетического исследования вероятным является наличие у описанных пациентов дефектов в генах *SAMD9/SAMD9L* с приобретением функции. Однако для подтверждения функционального варианта данных мутаций требуется проведение более глубокого обследования.

Примечательным является тот факт, что при инициальном обследовании у девочки отсутствовали цито-

Таблица 6

Клиническая характеристика пациентов с мутациями в генах *SAMD9/SAMD9L*

Table 6

Clinical characteristics of the patients with *SAMD9/SAMD9L* mutations

| Показатель<br>Parameter                                                                               | Мальчик<br>Boy                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Девочка<br>Girl                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Возраст<br>Age                                                                                        | 7 лет<br>7 years old                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 1,5 месяца<br>1.5 months old                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Генетический дефект<br>Genetic defect                                                                 | <i>SAMD9</i> :<br>1) герминальная мутация <i>de novo</i> , вероятно патогенная: с.4598G>A, р.(Arg1533Gln);<br>2) соматическая мутация неясного клинического значения: с.2743G>A, р.(Ala915Thr)<br>1) <i>de novo</i> germline mutation, probably pathogenic: с.4598G>A, р.(Arg1533Gln);<br>2) somatic mutation of unclear clinical significance | <i>SAMD9L</i> : с.4534G>A, р.Val1512Met                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| MIRAGE- синдром<br>MIRAGE syndrome                                                                    | МДС, рецидивирующие гнойные отиты, пневмонии, гломерулярная протеинурия с 2 месяцев, с раннего возраста энтеропатия<br>MDS, recurrent otitis with pus, pneumonia, glomerular proteinuria since he was 2 months old, enteropathy from an early age                                                                                              | МДС, ЦМВ-инфекция (виремия, поражение костного мозга)<br>MDS, cytomegalovirus (CMV) infection (viremia, bone marrow involvement)                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Другие клинические проявления<br>Other clinical manifestations                                        | Эпизоды немотивированной лихорадки, артралгии<br>Episodes of fever of unknown origin, arthralgia                                                                                                                                                                                                                                               | Задержка психомоторного развития<br>Psychomotor development delay                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Гематологические проявления<br>Hematologic manifestations                                             | С 3 месяцев тромбоцитопения, нейтропения<br>Thrombocytopenia and neutropenia since he was 3 months old                                                                                                                                                                                                                                         | С 2 месяцев анемия, тромбоцитопения<br>Anemia and thrombocytopenia since she was 2 months old                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Моносомия 7<br>Monosomy 7                                                                             | Да<br>Yes                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Да<br>Yes                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Сывороточные иммуноглобулины, г/л<br>Serum immunoglobulins, g/L                                       | IgG – 8,8,<br>IgA – 1,75,<br>IgM – 1,05                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | IgG – 15,8 (на фоне трансфузии внутривенным иммуноглобулином),<br>IgA – 0,4,<br>IgM – 0,5<br>IgG – 15.8 (as a result of intravenous immunoglobulin blood transfusions)<br>IgA – 0.4,<br>IgM – 0.5                                                                                                                                                                                                                                |
| Иммунофенотипирование лимфоцитов<br>Lymphocyte immunophenotyping                                      | CD19 – 60 кл/мкл,<br>Switched CD19 – 8%,<br>CD4 – 870 кл/мкл,<br>CD8 – 1 тыс. кл/мкл<br>CD19 – 60 cells/ $\mu$ L,<br>Switched CD19 – 8%,<br>CD4 – 870 cells/ $\mu$ L,<br>CD8 – 1000 cells/ $\mu$ L                                                                                                                                             | CD19 – 23 кл/мкл,<br>CD4 – 964 кл/мкл,<br>CD8 – 537 кл/мкл,<br>NK-клетки – 24 кл/мкл<br>CD19 – 23 cells/ $\mu$ L,<br>CD4 – 964 cells/ $\mu$ L,<br>CD8 – 537 cells/ $\mu$ L,<br>NK-cells – 24 cells/ $\mu$ L                                                                                                                                                                                                                      |
| Алло-ТГСК<br>Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation                                       | Да, гаплоидентичный донор<br>Yes, haploidentical donor                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Да, гаплоидентичный донор<br>Yes, haploidentical donor                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Кондиционирование/профилактика РТПХ<br>Conditioning/prophylaxis of "graft-versus-host" disease (GVHD) | Треосульфат 42 мг/м <sup>2</sup> ,<br>флударабин 150 мг/м <sup>2</sup> ,<br>тимоглобулин 5 мг/кг,<br>мелфалан 140 мг/м <sup>2</sup> ,<br>ритуксимаб 200 мг<br>Treosulfan 42 mg/m <sup>2</sup> ,<br>fludarabine 150 mg/m <sup>2</sup> ,<br>Thymoglobulin 5 mg/kg,<br>melphalan 140 mg/m <sup>2</sup> ,<br>rituximab 200 mg                      | Треосульфат 42 мг/м <sup>2</sup> ,<br>флударабин 150 мг/м <sup>2</sup> ,<br>тиотепа 10 мг/кг,<br>тоцилизумаб 8 мг/кг,<br>абатацепт 10 мг/кг,<br>ритуксимаб 100 мг/м <sup>2</sup> ,<br>бортезомиб + тоцилизумаб<br>Treosulfan 42 mg/m <sup>2</sup> ,<br>fludarabine 150 mg/m <sup>2</sup> ,<br>thiotepa 10 mg/kg,<br>tocilizumab 8 mg/kg,<br>abatacept 10 mg/kg,<br>rituximab 100 mg/m <sup>2</sup> ,<br>bortezomib + tocilizumab |
| Приживление трансплантата<br>Engraftment of the stem cells                                            | В стандартные сроки<br>Standard time interval                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | В стандартные сроки<br>Standard time interval                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Осложнения после трансплантации<br>Complications after transplantation                                | Острая РТПХ кожи III степени, кишечника III степени, энтероколит смешанной этиологии, мукозит II степени, двусторонняя пневмония, септический шок<br>Acute GVHD of the skin, grade III;<br>acute GVHD of the gut, grade III;<br>mixed-cause enterocolitis;<br>grade II mucositis; bilateral pneumonia; septic shock                            | Острая РТПХ кожи II степени, желудка, ЦМВ-инфекция (виремия, пневмония, ретинит с отслойкой сетчатки), IRIS с поражением легких<br>Acute GVHD of the skin, grade II;<br>acute GVHD of the stomach;<br>CMV infection (viremia, pneumonia, retinitis with retinal detachment), pulmonary IRIS                                                                                                                                      |
| Химеризм/иммунная реконституция<br>Chimerism/immune reconstitution                                    | Полностью донорский/не достигнута<br>Complete donor chimerism/not achieved                                                                                                                                                                                                                                                                     | Полностью донорский/достигнута<br>Complete donor chimerism/achieved                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Статус основного заболевания<br>Primary disease status                                                | Ремиссия<br>Remission                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Ремиссия<br>Remission                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Статус в настоящее время<br>Current status                                                            | Жив<br>Alive                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Жива<br>Alive                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

генетические перестройки в клетках костного мозга при наличии глубокой цитопении, однако моносомия 7-й хромосомы была диагностирована спустя 10 мес. Данный факт может свидетельствовать о развитии моносомии в качестве компенсаторного реверсного механизма, описанного у данной группы пациентов.

Следует отметить, что у нашей пациентки с дефектом *SAMD9L* на первом году жизни и на ранних сроках после алло-ТГСК отсутствовала неврологическая симптоматика по типу атаксии, описанная у этой группы пациентов.

Однако по данным катамнеза на поздних сроках после алло-ТГСК пациентка неоднократно наблюдалась неврологом в связи с отставанием в психомоторном развитии: в возрасте 4 лет девочка произносит лишь отдельные слоги, снижена мышечная сила, нарушена мелкая моторика. По результатам магнитно-резонансной томографии головного мозга в возрасте 3 лет были выявлены признаки лейкодистрофии белого вещества головного мозга. Таким образом, отсутствие атаксии в первые годы жизни не исключает возможность развития неврологических проявлений в более старшем возрасте. В настоящее время также нельзя однозначно оценить роль токсичности кондиционирования перед алло-ТГСК в развитии или ухудшении неврологической симптоматики у пациентов с дефектом *SAMD9L*, это требует дальнейшего изучения.

По результатам минимального иммунологического обследования, проведенного на диагностическом этапе, у описанных выше пациентов были выявлены изменения, укладывающиеся в рамки первичного дефекта иммунной системы: дефицит В-клеточного звена иммунитета, гипогаммаглобулинемия.

Кроме того, у пациента мужского пола отмечались аутовоспалительные проявления: немотивированные эпизоды фебрильной лихорадки, артралгии. Однако данные проявления несколько отличаются от описанного в литературе синдрома CANDLE у пациентов с дефектом *SAMD9L* [20].

Единственной куративной терапевтической опцией пациентов с МДС является проведение алло-ТГСК. Пациенты, описанные в данной работе, успешно перенесли трансплантацию и находятся в ремиссии со стороны МДС.

По данным литературы, алло-ТГСК не оказывает положительного влияния на негематологические проявления в рамках синдрома MIRAGE, диагностированные у пациентов до трансплантации. В связи с этим в настоящее время абсолютным показанием к проведению алло-ТГСК у пациентов с дефектами *SAMD9/SAMD9L* являются развитие МДС и наличие клиничко-лабораторной картины комбинированной иммунной недостаточности [22].

## МНЕНИЕ ЭКСПЕРТА

**А.Ю. Щербина, профессор, заведующая отделением иммунологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России**

В классификации врожденных дефектов иммунитета или первичных иммунодефицитов подгруппа дефектов с аплазией кроветворения выделена относительно недавно [1]. Тем не менее многие состояния из этой группы были описаны и известны давно, однако классифицировались ранее как гематологические заболевания. Другие были выделены в данную группу недавно, по мере описания генетических основ этих состояний. К таким заболеваниям относятся состояния, ассоциированные с дефектами в генах *SAMD9* и *SAMD9L*. Это относительно новая группа нозологий, характеризующихся разнообразным спектром клинических проявлений: от изолированных гематологических симптомов до мультисистемного поражения в рамках синдрома MIRAGE.

Герминальные мутации в *SAMD9/SAMD9L* с приобретением функции в соответствующих генах являются наиболее распространенными факторами развития предрасположенности к педиатрическому МДС. Эти пациенты составляют не менее половины случаев педиатрических МДС с моносомией 7-й хромосомы. Эти гены и клинические случаи мутаций в них интересны тем, что варианты, приводящие к потере функции соответствующих белков, также ассоциируются с МДС, но с более поздним началом. Эти состояния представляют впервые описанный у человека механизм «адаптации путем анеуплоидии» – феномен, известный у микроорганизмов как способ адаптации к стрессу эндоплазматического ретикулума [8]. В то время как механизмы развития МДС при дефектах *SAMD9/SAMD9L* относительно понятны (рисунки 1), наличие изменений в иммунном статусе и связанных с этим инфекционных проявлений у пациентов с данной патологией не имеет полного объяснения и требует дальнейшего изучения.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

## ORCID

**Avedova A.Ya.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9399-6534>  
**Mersiyanova I.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0471-2956>  
**Pavlova A.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3974-5662>  
**Sultanova E.R.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0319-3699>  
**Petrova U.N.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1258-8281>  
**Balashov D.N.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2689-0569>  
**Shelikhova L.N.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0520-5630>  
**Raykina E.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-2053>  
**Pershin D.E.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6148-7209>  
**Pshonkin A.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2057-2036>  
**Fedorova D.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4567-1871>



## Литература

1. Bousfiha A., Jeddane L., Picard C., Al-Herz W., Ailal F., Chatila T., et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update of the IUIS Phenotypical Classification. *J Clin Immunol* 2020; 40 (1): 66–81. DOI: 10.1007/s10875-020-00758-x
2. Narumi S., Amano N., Ishii T., Katsumata N., Muroya K., Adachi M., et al. SAMD9 mutations cause a novel multisystem disorder, MIRAGE syndrome, and are associated with loss of chromosome 7. *Nature Genetics* 2016; 48 (7): 792–7. DOI: 10.1038/ng.3569
3. Buonocore F., Kühnen P., Suntharalingham J.P., Del Valle I., Digweed M., Stachelscheid H., et al. Somatic mutations and progressive monosomy modify SAMD9-related phenotypes in humans. *J Clin Invest* 2017; 127 (5): 1700–13. DOI: 10.1172/JCI91913
4. Nagamachi A., Matsui H., Asou H., Ozaki Y., Aki D., Kanai A., et al. Haploinsufficiency of SAMD9L, an endosome fusion facilitator, causes myeloid malignancies in mice mimicking human diseases with monosomy 7. *Cancer Cell* 2013; 24: 305–17.
5. Chefetz I., Amitai D., Browning S., Skorecki K., Adir N., Thomas M., et al. Normophosphatemic familial tumoral calcinosis is caused by deleterious mutations in SAMD9, encoding a TNF- $\alpha$  responsive protein. *J Invest Dermatol* 2008; 128 (6): 1423–9.
6. Sahoo S.S., Kozyra E.J., Wlodarski M.W. Germline predisposition in myeloid neoplasms: Unique genetic and clinical features of GATA2 deficiency and SAMD9/SAMD9L syndromes. *Best Pract Res Clin Haematol* 2020; 33 (3): 101197. DOI: 10.1016/j.beha.2020.101197
7. Chen D.H., Below J., Shimamura A., Keel S., Matsushita M., Wolff J., et al. Ataxia-Pancytopenia Syndrome is caused by missense mutations in SAMD9L. *Am J Hum Genet* 2016; 98 (6): 1146–58.
8. Duncan AW., Newell A., Bi W., Finegold M., Olson S., Beaudet A et al. Aneuploidy as a mechanism for stress-induced liver adaptation. *J. Clin Invest* 2012; 122: 3307–15.
9. Schwartz J.R., Ma J., Lamprecht T., Walsh M., Wang S., Bryant V., et al. The genomic landscape of pediatric myelodysplastic syndromes. *Nat Commun* 2017; 8: 1557.
10. Sahoo S., Pastor V., Goodings Ch., Voss R., Kozyra E., Szvetnik A., et al. Clinical evolution, genetic landscape and trajectories of clonal hematopoiesis in SAMD9/SAMD9L syndromes. *Nat Med* 2021; 27 (10): 1806–17.
11. Davidsson J., Puschmann A., Tedgård U., Bryder D., Nilsson L., Cammenga J. SAMD9 and SAMD9L in inherited predisposition to ataxia, pancytopenia, and myeloid malignancies. *Leukemia* 2018; 32 (5): 1106–15. DOI: 10.1038/s41375-018-0074-4
12. Thomas M., Abdelhamed Sh., Hiltenbrand R., Schwartz J., Sakurada S.M., Walsh M., et al. Pediatric MDS and bone marrow failure-associated germline mutations in SAMD9 and SAMD9L impair multiple pathways in primary hematopoietic cells. *Leukemia* 2021; 35: 3232–44.
13. Nagata Y., Narumi S., Guan Y., Przychodzen B., Hirsch C., Makishima H., et al. Germline loss-of-function SAMD9 and SAMD9L alterations in adult myelodysplastic syndromes. *Blood* 2018; 132 (21): 2309–13.
14. Russell A.J., Gray P.E., Ziegler J.B., Kim Y.J., Smith S., Sewell W.A., et al. SAMD9L autoinflammatory or ataxia pancytopenia disease mutations activate cell-autonomous translational repression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2021; 118 (34): e2110190118.
15. Allenspach E.J., Soveg F., Finn L.S., So L., Gorman J.A., Rosen A.B.I., et al. Germline SAMD9L truncation variants trigger global translational repression. *J Exp Med* 2021; 218 (5): e20201195.
16. Bluteau O., Sebert M., Leblanc T., Latour R., Quentin S., Lainey E., et al. A landscape of germ line mutations in a cohort of inherited bone marrow failure patients. *Blood* 2018; 131: 717–32. DOI: 10.1182/blood-2017-09-806489
17. Formankova R., Kanderova V., Rackova M., Svaton M., Brdicka T., Riha P., et al. Novel SAMD9 Mutation in a Patient With Immunodeficiency, Neutropenia, Impaired Anti-CMV Response, and Severe Gastrointestinal Involvement. *Front Immunol* 2019; 10: 2194.
18. Jeffries L., Shima H., Ji W., Panisello-Manterola D., McGrath J., Bird L., et al. A novel SAMD9 mutation causing MIRAGE syndrome: An expansion and review of phenotype, dysmorphology, and natural history. *J Med Genet* 2018; 176 (2): 415–20. DOI: 10.1002/ajmg.a.38557
19. Tesi B., Davidsson J., Voss M., Rahikkala E., Holmes T.D., Chiang S., et al. Gain-of-function SAMD9L mutations cause a syndrome of cytopenia, immunodeficiency, MDS, and neurological symptoms. *Blood* 2017; 129: 2266–79.
20. De Jesus A.A., Hou Y., Brooks S., Malle L., Biancotto A., Huang Y., et al. Distinct interferon signatures and cytokine patterns define additional systemic autoimmune-inflammatory diseases. *J Clin Invest* 2020; 130 (4): 1669–82.
21. Sahoo S.S., Pastor V.P., Panda P.K., Szvetnik E.A., Kozyra E.J., Voss R.K., et al. SAMD9 and SAMD9L germline disorders in patients Enrolled in studies of the European working group of MDS in childhood (EWOG-MDS): prevalence, outcome, phenotype and functional characterisation. *Blood* 2018; 132 (1): 613.
22. Ahmed I.A., Farooqi M.S., Lugt M., Boklan J., Rose M., Friebling E., et al. Outcomes of Hematopoietic Cell Transplantation in Patients with Germline SAMD9/SAMD9L Mutations. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25: 2186–96.
23. Pastor V.P., Sushree S., Sahoo S.S., Boklan J., Schwabe G.C., Saribeyoglu E., et al. Constitutional SAMD9L mutations cause familial myelodysplastic syndrome and transient monosomy 7. *Haematologica* 2018; 103 (3): 427–37.

© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ  
им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России  
Поступила 13.05.2022  
Принята к печати 27.06.2022

#### Контактная информация:

Подоплелова Надежда Александровна,  
ведущий научный сотрудник лаборатории  
клеточного гемостаза и тромбоза  
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия  
Рогачева» Минздрава России  
Адрес: 117997, Москва,  
ул. Саморы Машела, 1  
E-mail: podoplelovan@yandex.ru

© 2022 by «D. Rogachev NMRCPhOI»

Received 13.05.2022  
Accepted 27.06.2022

#### Correspondence:

Nadezhda A. Podoplelova,  
PhD, leading researcher of the Laboratory  
of Cell Hemostasis and Thrombosis,  
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: podoplelovan@yandex.ru

Долгое время эритроциты не рассматривали в качестве активных участников при тромбообразовании. Однако накопившиеся клинические данные уверенно указывают на связь количественных и качественных отклонений эритроцитов с тромбозами. Проведенные в последние годы клинические исследования среди факторов, увеличивающих риск как артериального, так и венозного тромбозов, называют повышенный гематокрит [1–4]. Кроме того, качественные дефекты эритроцитов, такие как измененные размер и форма клеток, а также нарушения деформируемости, ассоциированы с повышенным риском тромбоза [5–10]. Также одновременно с активным развитием трансфузиологии изучалось влияние на гемостаз переливания эритроцитарной массы, так как выяснилось, что тромботические осложнения после переливания напрямую связаны со сроками ее хранения [11]. Появились данные о значительной роли эритроцитов даже в случаях артериального тромбоза и в развитии других сердечно-сосудистых заболеваний, например атеросклероза [12]. Исследования последних 20 лет

DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-136-141

## Влияние эритроцитов на свертывание крови

И.А. Чабин<sup>1, 2</sup>, Н.А. Подоплелова<sup>1, 3</sup>, М.А. Пантелеев<sup>1, 3</sup>

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

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

<sup>3</sup>ФГБУН Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва

Известно, что эритроциты могут оказывать прокоагулянтное действие на систему гемостаза. Этот эффект обычно объясняют либо общим повышением вязкости крови из-за увеличения гематокрита, либо влиянием эритроцитов на транспорт тромбоцитов к стенке сосуда и их дальнейшую адгезию. Однако исследования последних лет указывают на то, что роль эритроцитов в свертывании крови гораздо шире. В данном обзоре мы рассмотрим основные механизмы, известные на данный момент, посредством которых эритроциты могут влиять на процессы гемостаза и тромбоза в норме и патологии.

**Ключевые слова:** эритроциты, свертывание крови, тромбоз

Чабин И.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022; 21 (3): 136–141.  
DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-136-141

## Red blood cells contribution in blood coagulation

I.A. Chabin<sup>1, 2</sup>, N.A. Podoplelova<sup>1, 3</sup>, M.A. Panteleev<sup>1, 3</sup>

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

<sup>2</sup>Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow

<sup>3</sup>Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow

For a long time, red blood cells have been known to have a procoagulant effect on hemostatic system. This effect was usually ascribed to either general increase of blood viscosity due to increased hematocrit value, RBCs' transport-enhancing effect on platelets adhesion under flow conditions. It is known that red blood cells can have a procoagulant effect on the hemostasis system. This effect is usually explained either by a general increase in blood viscosity due to an increase in hematocrit, or by the effect of red blood cells on the transport of platelets to the vessel wall and their further adhesion. However, recent studies indicate that the role of red blood cells in blood coagulation is much wider. In this review, we will consider the main mechanisms currently known, through which red blood cells can influence the processes of hemostasis and thrombosis in normal and pathological conditions.

**Key words:** red blood cells, blood coagulation, thrombosis

Chabin I.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (3): 136–141.  
DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-136-141

показывают, что эритроциты являются активными участниками процессов свертывания крови.

В данном обзоре мы рассмотрим основные механизмы, известные на данный момент, посредством которых эритроциты могут влиять на процессы гемостаза и тромбоза в норме и патологии.

### Влияние эритроцитов на гемостаз, обусловленное реологическими эффектами

Наверное, самым известным фактом влияния эритроцитов на гемостаз является феномен их централизации в просвете сосуда. Он появляется за счет многих факторов, в числе которых пластичность формы эритроцитов и их способность к обратимой агрегации (в том числе через фибриноген и другие плазменные белки) [13, 14]. Таким образом, остальные клетки, в том числе тромбоциты, оказываются оттесненными на периферию, где их концентрация около стенки сосуда увеличивается в 3–8 раз [15], вследствие чего и начинается рост тромбов.

Другим известным фактом влияния эритроцитов на гемостаз является клиническое наблюдение связи

увеличенного времени кровотечения с низким гематокритом при нормальном числе тромбоцитов [16]. И наоборот, при повышенном числе эритроцитов и относительно нормальном количестве тромбоцитов (например, использование эритропоэтина как допинга) наблюдается склонность к тромботическим состояниям [17, 18]. Эпидемиологические исследования также показали, что более высокий гематокрит связан с тромбозом глубоких вен и сердечно-сосудистыми заболеваниями [19]. При патологических состояниях с повышенным гематокритом, таких как цианотический врожденный порок сердца и истинная полицитемия, повышается риск тромбообразования [20, 21]. Фактически одним из методов лечения истинной полицитемии является снижение гематокрита посредством флеботомии [21]. В дополнение к этим косвенным доказательствам вклада эритроцитов в тромбоз сообщалось, что переливание эритроцитов способствует образованию сгустка посредством активации тромбоцитов, особенно в условиях тромбоцитопении [22].

Эти эффекты связывают с изменением вязкости крови. Действительно, эритроциты считаются основным компонентом, определяющим этот параметр [19, 23, 24]. Зависимость вязкости крови от гематокрита экспоненциальная в крупных сосудах [25] и линейная в капиллярах [26]. Получается логичная закономерность: больше эритроцитов – выше вязкость крови, а повышенная вязкость крови напрямую связана с увеличенным риском тромбоза как компонент триады Вирхова, а также через изменения характера тока крови и повреждение эндотелия [27].

Все эти свойства эритроцитов определяются их объемом и формой. И если в норме пластичность эритроцитов объясняет различную вязкость крови при высоких (в артериях) и низких (в венах) скоростях сдвига, то значительно возрастает значимость этого факта при различных эритроцитопатиях, связанных с нарушением формы и/или пластичности клетки [28]. Поэтому некоторые исследователи рассматривают этот фактор как отдельный механизм влияния эритроцитов на гемостаз [29].

### **Влияние эритроцитов на плазменное звено свертывания**

Все ключевые реакции свертывания крови максимально эффективно протекают на отрицательно заряженных фосфолипидных мембранах, в первую очередь фосфатидилсерин-содержащих. В норме фосфатидилсерин находится на внутреннем слое мембраны, но при различных биохимических процессах может выходить на внешний слой. Одним из основных источников отрицательно заряженной мембраны являются тромбоциты, которые при

своей активации могут терять ее асимметричность, выставляя фосфатидилсерин на внешний слой, где и происходят мембранозависимые реакции. Однако эритроциты, долгое время не считавшиеся участниками этого процесса, имеют аналогичный процент фосфатидилсерина в мембране по сравнению с мембраной тромбоцитов [30, 31]. Кроме того, установленным фактом является возможность эритроцитов выставлять фосфатидилсерин на внешний слой [32]. Они теряют асимметричность мембраны при повреждениях, которые могут возникать и в условиях физиологической нормы: высокие скорости сдвига, воспаление и оксидативный стресс [33]. Этот процесс является кальций-зависимым, он связан с эритроптозом – процессом, схожим с апоптозом, но протекающим у безъядерных эритроцитов [34]. Имея такие данные, логично предположить, что в крови может появляться некоторый процент эритроцитов, экспрессирующих фосфатидилсерин, которые могут поддерживать мембранозависимые реакции свертывания крови. Действительно, эти данные нашли подтверждение: было показано, что в крови здоровых людей циркулирует 0,4–0,5% таких эритроцитов. И даже такого небольшого числа хватает для обеспечения до 40% от общего потенциала генерации тромбина цельной кровью за счет большого общего количества эритроцитов [35].

Показано, что эритроциты имеют на своей мембране эластазоподобный фермент, способный самостоятельно расщеплять фактор IX, который входит в состав комплекса внутренней теназы, тем самым поддерживая активацию свертывания крови [36].

Другим важным звеном влияния на плазменное свертывание является факт связи наличия у эритроцитов антигенов А или В с более высокой плазменной концентрацией фактора свертывания крови VIII и фактора Виллебранда, чем у людей с I (0) группой крови. Точный механизм этого феномена неизвестен, но предполагается, что эти факторы могут претерпевать посттрансляционные изменения, которые замедляют их выведение из крови. А это, в свою очередь, может влиять на риск тромбоза/кровотечения у людей с определенными группами крови [37].

Основным антикоагулянтным механизмом влияния эритроцитов на гемостаз является то, что на мембране эритроцитарного происхождения тромбин синтезируется через промежуточный фермент – мейзотромбин [35]. В отличие от тромбина, который расщепляет фибриноген и может активировать тромбоциты через PAR1-рецептор с каталитическими константами на несколько порядков выше, чем для расщепления протеина С, мейзотромбин расщепляет все эти белки примерно с одинаковыми константами. Но при этом расщепление протеина С уско-

ряется в присутствии тромбомодулина, а еще более значительно в присутствии фосфолипидов, причем плато начинает достигаться лишь при приближении к концентрации фосфолипидов в 1 мМ [38]. Протеин С в свою очередь является естественным антикоагулянтном, который вместе со своим кофактором протеином S способен расщеплять факторы Va и VIIIa, тем самым разрушая комплексы внутренней теназы и протромбиназы и останавливая плазменное свертывание.

### Эритроцитарные микровезикулы

Образование микровезикул – процесс, описанный для совершенно разных типов клеток, который зачастую является признаком старения клетки и сопровождается ее апоптозом [39]. Эритроциты не являются исключением, образование микровезикул зависит от времени их циркуляции в крови. Подавляющее большинство этих везикул содержат в своей внешней мембране фосфатидилсерин [40]. Поэтому такие везикулы являются мощным протромботическим фактором, так как могут запускать каскад плазменного свертывания посредством активации фактора Хагемана [41] и поддерживать мембранозависимые реакции свертывания крови. Влияние эритроцитарных везикул на свертывание крови в норме считается незначительным, но описано их огромное значение при различных эритроцитарных [42] и неэритроцитарных [43] патологиях.

Другой важной особенностью микровезикул является их возможность провоцировать системное воспаление. Для объяснения этого феномена было предложено несколько механизмов. Первый – это накопление микровезикулами свободного гема, а затем его транспорт в эндотелий, что вызывает его активацию. Второй – это тромбин-зависимая активация комплемента на поверхности этих везикул [44].

Кроме того, данный фактор активно изучается в связи с вопросами трансфузиологии. Эритроцитарная масса – один из самых потребляемых компонентов крови, а количество микровезикул – один из факторов, определяющих ее тромбогенное влияние, которое увеличивается со временем хранения [45].

Таким образом, микровезикулы, с одной стороны, могут рассматриваться в качестве одной из потенциальных мишеней анти тромботической терапии [44], а, с другой стороны, их рутинный анализ в долгохранящейся эритроцитарной массе может позволить выявить то количество везикул, которое связано с возрастающим риском тромбоза, и очертить четкую границу качества эритроцитарной массы [45].

### Взаимодействие с тромбоцитами

Хорошо изученным взаимодействием эритроцитов и тромбоцитов является описанный ранее

реологический эффект оттеснения тромбоцитов к стенке крупных сосудов, описанный выше. Другим важным фактором является возможность их прямого взаимодействия. Так, показана возможность прямого взаимодействия для эритроцитов и тромбоцитов в условиях венозного тромбоза через гликопротеин VI-опосредованную адгезию. Более того, показано влияние тромбоцитов на эритроциты в условиях тромба, когда близкорасположенный тромбоцит, выставляя на своей поверхности Fas-лиганд, активирует Fas-рецептор эритроцита, что приводит к выставлению последним фосфатидилсерина на внешнем слое мембраны и увеличивает количество прокоагулянтной поверхности [46]. Также тромбоциты могут увеличивать количество фосфатидилсерин-положительных эритроцитов, выделяя при активации метаболиты арахидоновой кислоты и тромбоксан A2 [47]. Они влияют на уровень цитозольного кальция в эритроцитах, что может запускать процесс эритроптоза. Интересно, что тромбоциты могут образовывать агрегаты с эритроцитами через взаимодействие тромбоцитарного интегрин  $\alpha 2b\beta 3$  и эритроцитарной молекулы ICAM-4 [48].

Другой механизм взаимодействия известен достаточно давно – способность эритроцитов выделять аденозиндифосфат в условиях стресса, который активирует тромбоциты и вызывает их агрегацию [49]. Кроме того, эритроциты в условиях гемолиза могут терять гемоглобин, который как напрямую активирует [50], так и опосредованно влияет на тромбоциты. Свободный гемоглобин легко реагирует с NO, превращаясь в метгемоглобин и нитрат-анион, эта реакция необратимая и протекает крайне быстро [51]. Поэтому уровень NO в крови резко падает, что приводит к снижению его вазодилатирующего эффекта и ингибирующего действия на тромбоциты. Также из поврежденных эритроцитов выходит аргиназа, метаболизирующая L-аргинин, который используется в синтезе NO, до орнитина, тем самым снижается доступность субстрата [52, 53].

### Взаимодействие эритроцитов с эндотелием

В норме прямое взаимодействие эритроцитов и эндотелия минимально, однако ситуация меняется при патологических состояниях, приводящих к повреждению эритроцитов и/или эндотелия. При разных заболеваниях эритроциты могут адгезировать к сосудистой стенке через различные рецепторы, такие как VCAM-1, ламинин  $\alpha 5$ , ICAM-1, CD36, CD31, PECAM-1 или рецептор для конечных продуктов гликозилирования (RAGE) через эритроцитарные молекулы базальной клеточной адгезии (BCAM), интегрин  $\alpha 4\beta 1$  и гликозилированный сегмент 3, а также молекулы, связанные с заражением клетки малярийным плазмодием [54]. Такие взаимодей-

ствия могут приводить к тромбозу сосудов малого диаметра, так как связаны с повышением вязкости крови и замедлением скорости тока крови в сосуде. Показано, что повышение количества фосфатидилсерин-положительных эритроцитов также связано с увеличением адгезии таких клеток к стенке сосуда через эндотелиальные рецепторы к фосфатидилсерину. Такие взаимодействия крайне важны в патогенезе тромбоза центральной вены сетчатки [55].

Кроме клеток самого эндотелия эритроциты могут взаимодействовать и с субэндотелиальным матриксом через ламинин и тромбоспондин, которые связываются с сульфатированным гликолипидом эритроцитарной мембраны. Данное взаимодействие описано как для нормальных эритроцитов, так и для патологических (серповидноклеточная анемия), при которых оно выражено больше [56, 57], т. е. этот процесс может иметь место как в случае нормального гемостаза, так и в случае патологического тромбообразования.

Отдельно стоит упомянуть про активацию эндотелия в случае гипоксии. Анемия и, как следствие, нарушение транспорта кислорода эритроцитами может влиять через этот механизм на эндотелий и стимулировать его тромботическое действие [58].

#### **Влияние на свойства тромба, его лизис и контракцию**

Общеизвестно, что эритроциты являются одной из ключевых составляющих венозного тромба, однако их количество достаточно и в артериальных тромбах [59]. Интересно, что концентрация эритроцитов влияет на структуру фибрина в тромбе: при средних концентрациях плотность упаковки фибриновых волокон неоднородна, есть места с плотно расположенными нитями, а есть места, где они играют роль балок, проложенных между клетками. При высоких концентрациях волокна имеют больший диаметр и более однородны, но при этом они больше не окружают клетки, как паутина [60]. Эритроциты включаются и удерживаются в составе тромба через 2 независимых, но действующих вместе механизма: плотность фибриновой сети и сшивание  $\alpha$ -регионов фибриногена фактором XIIIa [61]. Эритроциты увеличивают плотность сгустка и снижают его проницаемость. Напротив, при вымывании эритроцитов из тромба остаются поры, которые повышают его проницаемость.

Как ранее уже упоминалось, включение эритроцитов в состав тромба снижает его проницаемость, вероятно, это одна из причин более высокой стойкости тромбов к фибринолизу, в том числе терапевтическому. С другой стороны, показано, что эритроцитарные микровезикулы могут нести на своей поверхности плазминоген и обладают значительной

фибринолитической активностью, которая падает со временем хранения эритроцитарной массы.

В последнее время появилось много новых данных о влиянии эритроцитов в составе тромба на его контракцию (ретракцию). Сначала было установлено, что в ходе этого процесса эритроциты меняют свою форму с нормального двояковогнутого диска на многогранную, это позволяет им образовывать более плотные контакты друг с другом и другими клетками в тромбе. Кроме того, они уплотняются в центре тромба, дополнительно снижая его проницаемость [62], что закономерно приводит к лучшей остановке кровотечений. Также при контракции уменьшается размер тромба, который в случае венозного тромбоза напрямую связан с количеством эритроцитов: меньший размер тромба нужен для восстановления просвета сосуда, при этом не теряется гемостатическая функция [61]. Но эритроциты являются крайне жесткими клетками и этим могут увеличивать время контракции тромба [63], требуя больше времени и развиваемой тромбоцитами силы на свое сжатие. При эритроцитарных изменениях, сопровождающихся появлением избыточно жестких клеток (серповидноклеточная анемия), зафиксировано нарушение контракции тромба [64], которая напрямую связана с риском тромбоэмболических событий [65].

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В данном обзоре рассмотрены различные механизмы влияния эритроцитов на свертывание крови, однако просуммировать все эти эффекты на данный момент представляется затруднительным, так как, с одной стороны, они зачастую направлены на разные звенья этого сложного процесса, а, с другой стороны, иногда они имеют разнонаправленное действие. Кроме того, крайне интересным представляется изучение изменения этих механизмов в случае различных патологий. Хочется отметить, что все представленные данные больше не позволяют считать эритроциты неважными или пассивными участниками гемостаза. Напротив, в этой области нас могут ждать новые интересные открытия, возможно, новые предикторы тромбообразования и перспективные мишени для лекарственной терапии.

#### **ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ**

Исследование проведено при поддержке гранта Российского научного фонда, проект №20-74-00133

#### **КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ**

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить

#### **ORCID**

**Chabin I.A.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0625-1743>

**Podoplelova N.A.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8013-1112>

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



## Литература

1. Toss F., Nordström A., Nordström P. Association between hematocrit in late adolescence and subsequent myocardial infarction in Swedish men. *Int J Cardiol* 2013; 168: 3588–93.
2. Sabatine M.S., Morrow D.A., Giugliano R.P., Burton P.B.J., Murphy S.A., McCabe C.H., et al. Association of hemoglobin levels with clinical outcomes in acute coronary syndromes. *Circulation* 2005; 111: 2042–9.
3. Gagnon D.R., Zhang T.J., Brand F.N., Kannel W.B. Hematocrit and the risk of cardiovascular disease – the Framingham study: a 34-year follow-up. *Am Heart J* 1994; 127: 674–82.
4. Danesh J., Collins R., Peto R., Lowe G.D.O. Haematocrit, viscosity, erythrocyte sedimentation rate: meta-analyses of prospective studies of coronary heart disease. *Eur Heart J* 2000; 21: 515–20.
5. Verduzco L.A., Nathan D.G. Sick cell disease and stroke. *Blood* 2009; 114: 5117–25.
6. Stein P.D., Beemath A., Meyers F.A., Skaf E., Olson R.E. Deep Venous Thrombosis and Pulmonary Embolism in Hospitalized Patients with Sick Cell Disease. *Am J Med* 2006; 119: 897.e7–e11.
7. Novelli E.M., Huynh C., Gladwin M.T., Moore C.G., Ragni M.V. Pulmonary embolism in sickle cell disease: a case-control study. *J Thromb Haemost* 2012; 10: 760–6.
8. Folsom A.R., Tang W., Roetker N.S., Kshirsagar A.V., Derebail V.K., Lutsey P.L., et al. Prospective study of sickle cell trait and venous thromboembolism incidence. *J Thromb Haemost* 2015; 13: 2–9.
9. Schilling R.F., Gangnon R.E., Traver M.I. Delayed adverse vascular events after splenectomy in hereditary spherocytosis. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 1289–95.
10. Hill A., Kelly R.J., Hillmen P. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2013; 121: 4985–96.
11. Wannez A., Devalet B., Chatelain B., Chatelain C., Dogné J.M., Mullier F. Extracellular Vesicles in Red Blood Cell Concentrates: An Overview. *Transfus Med Rev* 2019; 33: 125–30.
12. Turpin C., Catan A., Meilhac O., Bourdon E., Canonne-Hergaux F., Rondeau P. Erythrocytes: Central Actors in Multiple Scenes of Atherosclerosis. *Int J Mol Sci* 2021; 22 (11): 5843. DOI: 10.3390/ijms22115843
13. Dintenfass L. Inversion of the Fahraeus-Lindqvist phenomenon in blood flow through capillaries of diminishing radius. *Nature* 1967; 215: 1099–100.
14. Baskurt O.K., Yalcin O., Ozdem S., Armstrong J.K., Meiselman H.J. Modulation of endothelial nitric oxide synthase expression by red blood cell aggregation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286 (1): H222–9. DOI: 10.1152/ajpheart.00532.2003
15. Flamm M.H., Diamond S.L. Multi-scale systems biology and physics of thrombosis under flow. *Ann Biomed Eng* 2012; 40: 2355–64.
16. Duke W.W. The Relation of Blood Platelets to Hemorrhagic Disease: Description of a Method for Determining the Bleeding Time and Coagulation Time and Report of Three Cases of Hemorrhagic Disease Relieved by Transfusion. *JAMA* 1983; 250: 1201–9.
17. Clyne N., Berglund B., Egberg N. Treatment with recombinant human erythropoietin induces a moderate rise in hematocrit and thrombin antithrombin in healthy subjects. *Thromb Res* 1995; 79: 125–9.
18. Tokish J.M., Kocher M.S., Hawkins R.J. Ergogenic aids: a review of basic science, performance, side effects, and status in sports. *Am J Sports Med* 2004; 32: 1543–53.
19. Byrnes J.R., Wolberg A.S. Red blood cells in thrombosis. *Blood* 2017; 130: 1795–9.
20. Jensen A.S., Idorn L., Thomsen C., Von Der Recke P., Mortensen J., Sørensen K.E., et al. Prevalence of cerebral and pulmonary thrombosis in patients with cyanotic congenital heart disease. *Heart* 2015; 101: 1540–6.
21. De Stefano V., Za T., Rossi E., Vanucchi A.M., Ruggeri M., Elli E., et al. Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: incidence, risk factors, and effect of treatments. *Haematologica* 2008; 93: 372–80.
22. Leone G., Sica S., Chiusolo P., Teofili L., De Stefano V. Blood cells diseases and thrombosis. *Haematologica* 2001; 86: 1236–44.
23. Lowe G.D.O., Lee A.J., Rumley A., Price J.F., Fowkes F.G.R. Blood viscosity and risk of cardiovascular events: the Edinburgh Artery Study. *Br J Haematol* 1997; 96: 168–73.
24. Rampling M.W. The binding of fibrinogen and fibrinogen degradation products to the erythrocyte membrane and its relationship to haemorheology. *Acta Biol Med Ger* 1981; 40: 373–8.
25. Pries A.R., Neuhaus D., Gaehtgens P. Blood viscosity in tube flow: dependence on diameter and hematocrit. *Am J Physiol* 1992; 263 (6 Pt 2): H1770–8. DOI: 10.1152/ajpheart.1992.263.6.H1770
26. Lanotte L., Mauer J., Mendez S., Fedosov D.A., Fromental J.M., Claveria V., et al. Red cells' dynamic morphologies govern blood shear thinning under microcirculatory flow conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; 113: 13289–94.
27. Weisel J.W., Litvinov R.I. Red blood cells: the forgotten player in hemostasis and thrombosis. *J Thromb Haemost* 2019; 17: 271–82.
28. Piety N.Z., Reinhart W.H., Pourreau P.H., Abidi R., Shevkopyas S.S. Shape matters: the effect of red blood cell shape on perfusion of an artificial microvascular network. *Transfusion* 2016; 56: 844–51.
29. Alamin A.A. The Role of Red Blood Cells in Hemostasis. *Semin Thromb Hemost* 2021; 47: 26–31.
30. Owen J.S., Bruckdorfer K.R., Day R.C., McIntyre N. Decreased erythrocyte membrane fluidity and altered lipid composition in human liver disease. *J Lipid Res* 1982; 23: 124–32.
31. Crawford N. Structural and Molecular Properties of Platelet Membrane Systems. *Platelet Membr Glycoproteins* 1985: 13–49.
32. Whelihan M.F., Mann K.G. The role of the red cell membrane in thrombin generation. *Thromb Res* 2013; 131: 377–82.
33. Shi J., Shi Y., Waehrens L.N., Rasmussen J.T., Heegaard C.W., Gilbert G.E. Lactadherin detects early phosphatidylserine exposure on immortalized leukemia cells undergoing programmed cell death. *Cytometry A* 2006; 69: 1193–201. DOI: 10.1002/cyto.a.20345
34. Freikman I., Fibach E. Distribution and shedding of the membrane phosphatidylserine during maturation and aging of erythroid cells. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1808: 2773–80.
35. Whelihan M.F., Zachary V., Orfeo T., Mann K.G. Prothrombin activation in blood coagulation: the erythrocyte

- contribution to thrombin generation. *Blood* 2012; 120: 3837–45.
36. Iwata H., Kaibara M., Dohmae N., Takio K., Himeno R., Kawakami S. Purification, identification, and characterization of elastase on erythrocyte membrane as factor IX-activating enzyme. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 316: 65–70.
  37. Ward S.E., O'Sullivan J.M., O'Donnell J.S. The relationship between ABO blood group, von Willebrand factor, and primary hemostasis. *Blood* 2020; 136: 2864.
  38. Stojanovski B.M., Pelc L.A., Zuo X., Pozzi N., Di Cera E. Enhancing the anticoagulant profile of meizothrombin. *Biomol Concepts* 2018; 9: 169–75.
  39. Morel O., Jesel L., Freyssinet J.-M., Toti F. Cellular mechanisms underlying the formation of circulating microparticles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 15–26.
  40. Leal J.K.F., Adjubo-Hermans M.J.W., Bosman G.J.C.G.M. Red blood cell homeostasis: Mechanisms and effects of microvesicle generation in health and disease. *Front Physiol* 2018; 9: 703. DOI: 10.3389/fphys.2018.00703
  41. Van der Meijden P.E.J., van Schilf-gaarde M., van Oerle R., Renné T., ten Cate H., Spronk H.M.H. Platelet- and erythrocyte-derived microparticles trigger thrombin generation via factor XIIa. *J Thromb Haemost* 2012; 10: 1355–62. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2012.04758.x
  42. Allan D., Limbrick A.R., Thomas P., Westerman M.P. Release of spectrin-free spicules on reoxygenation of sickled erythrocytes. *Nature* 1982; 295: 612–3.
  43. Forest A., Pautas E., Ray P., Bonnet D., Verny M., Amabile N., et al. Circulating microparticles and procoagulant activity in elderly patients. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2010; 65: 414–20. DOI: 10.1093/gerona/glp187
  44. Zecher D., Cumpelik A., Schifferli J.A. Erythrocyte-derived microvesicles amplify systemic inflammation by thrombin-dependent activation of complement. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014; 34: 313–20.
  45. Kim Y., Goodman M.D., Jung A.D., Abplanalp W.A., Schuster R.M., Caldwell C.C., et al. Microparticles from aged packed red blood cell units stimulate pulmonary microthrombus formation via P-selectin. *Thromb Res* 2020; 185: 160–6.
  46. Klatt C., Krüger I., Zey S., Krott K.J., Spelleken M., Gowert N.S., et al. Platelet-RBC interaction mediated by FasL/FasR induces procoagulant activity important for thrombosis. *J Clin Invest* 2018; 128: 3906–25.
  47. Vallés J., Teresa Santos M., Aznar J., Martínez M., Moscardó A., Piñón M., et al. Platelet-erythrocyte interactions enhance  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 integrin receptor activation and P-selectin expression during platelet recruitment: Down-regulation by aspirin *ex vivo*. *Blood* 2002; 99: 3978–84.
  48. Hermand P., Gane P., Huet M., Jallu V., Kaplan C., Sonneborn H.H., et al. Red cell ICAM-4 is a novel ligand for platelet-activated  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 integrin. *J Biol Chem* 2003; 278: 4892–8.
  49. Reimers R., Sutera S., Joist J. Potentiation by Red Blood Cells of Shear-Induced Platelet Aggregation: Relative Importance of Chemical and Physical Mechanisms. *Blood* 1984; 64: 1200–6.
  50. Villagra J., Shiva S., Hunter L.A., Machado R.F., Gladwin M.T., Kato G.J. Platelet activation in patients with sickle disease, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and nitric oxide scavenging by cell-free hemoglobin. *Blood* 2007; 110: 2166–72.
  51. Nakai K., Ohta T., Sakuma I., Akama K., Kobayashi Y., Tokuyama S., et al. Inhibition of endothelium-dependent relaxation by hemoglobin in rabbit aortic strips: comparison between acellular hemoglobin derivatives and cellular hemoglobins. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 28: 115–23.
  52. Schnog J.J.B., Jager E.H., van der Dijs F.P.L., Duits A.J., Moshage H., Muskiet F.D., et al. Evidence for a metabolic shift of arginine metabolism in sickle cell disease. *Ann Hematol* 2004; 83: 371–5.
  53. Rother R.P., Bell L., Hillmen P., Gladwin M.T. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. *JAMA* 2005; 293: 1653–62.
  54. Wautier J.L., Wautier M.P. Molecular basis of erythrocyte adhesion to endothelial cells in diseases. *Clin Hemorheol Microcirc* 2013; 53: 11–21.
  55. Wautier M.P., Héron E., Picot J., Colin Y., Hermine O., Wautier J.L. Red blood cell phosphatidylserine exposure is responsible for increased erythrocyte adhesion to endothelium in central retinal vein occlusion. *J Thromb Haemost* 2011; 9: 1049–55.
  56. Watkins N.A., Du L.M., Scott J.P., Ouwehand W.H., Hillery C.A. Single-chain antibody fragments derived from a human synthetic phage-display library bind thrombospondin and inhibit sickle cell adhesion. *Blood* 2003; 102: 718–24.
  57. Hillery C.A., Du M.C., Montgomery R.R., Scott J.P. Increased adhesion of erythrocytes to components of the extracellular matrix: Isolation and characterization of a red blood cell lipid that binds thrombospondin and laminin. *Blood* 1996; 87: 4879–86.
  58. Sergueeva A., Miasnikova G., Shah B.N., Song J., Lisina E., Okhotin D.J., et al. Prospective study of thrombosis and thrombospondin-1 expression in Chuvash polycythemia. *Hematologica* 2017; 102: e166–9.
  59. Silvain J., Collet J.P., Nagaswami C., Beygui F., Edmondson K.E., Bellemain-Appaix A., et al. Composition of coronary thrombus in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2011; 57: 1359–67.
  60. Gersh K.C., Nagaswami C., Weisel J.W. Fibrin network structure and clot mechanical properties are altered by incorporation of erythrocytes. *Thromb Haemost* 2009; 102: 1169–75.
  61. Kattula S., Byrnes J.R., Martin S.M., Holle L.A., Cooley B.C., Flick M.J., et al. Factor XIII in plasma, but not in platelets, mediates red blood cell retention in clots and venous thrombus size in mice. *Blood Adv* 2018; 2: 25–35.
  62. Cines D.B., Lebedeva T., Nagaswami C., Hayes V., Massefski W., Litvinov R.I., et al. Clot contraction: compression of erythrocytes into tightly packed polyhedra and redistribution of platelets and fibrin. *Blood* 2014; 123: 1596–603.
  63. Tutwiler V., Litvinov R.I., Lozhkin A.P., Peshkova A.D., Lebedeva T., Ataulakhov F.I., et al. Kinetics and mechanics of clot contraction are governed by the molecular and cellular composition of the blood. *Blood* 2016; 127: 149–59.
  64. Tutwiler V., Litvinov R.I., Protopopova A., Nagaswami C., Villa C., Woods E., et al. Pathologically stiff erythrocytes impede contraction of blood clots. *J Thromb Haemost* 2021; 19: 1990–2001.
  65. Peshkova A., Malyasyov D., Breidikhin R., Le Minh G., Andrianova I., Tutwiler V., et al. Reduced Contraction of Blood Clots in Venous Thromboembolism Is a Potential Thrombogenic and Embologenic Mechanism. *TH Open* 2018; 2 (1): e104–15. DOI: 10.1055/s-0038-1635572

© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России  
Поступила 12.05.2022  
Принята к печати 27.06.2022

DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-142-146

# Вклад электронной микроскопии в исследование нарушений морфологии тромбоцитов

С.И. Обыденный<sup>1, 2</sup>, И.И. Киреев<sup>3</sup>, М.А. Пантелеев<sup>1-3</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН, Москва

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва

## Контактная информация:

Обыденный Сергей Иванович,  
научный сотрудник лаборатории  
клеточного гемостаза и тромбоза  
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия  
Рогачева» Минздрава России  
Адрес: 117997, Москва,  
ул. Саморы Машела, 1  
E-mail: sergey.obydennyi@fccho-moscow.ru

В данной статье рассматривается роль электронной микроскопии в диагностике и изучении морфологических изменений при врожденных заболеваниях, вызывающих нарушения строения тромбоцитов. Морфологические нарушения могут быть разделены на патологии цитоскелета тромбоцитов, альфа- и плотных гранул, а также изменения мембраны. В обзоре описываются ультраструктурные дефекты тромбоцитов при синдроме Вискотта–Олдрича, MYH9-ассоциированных синдромах, синдроме серых тромбоцитов, синдроме Германского–Пудлака, синдроме Пари–Труссо и синдроме Чедиака–Хигаши.

**Ключевые слова:** морфология тромбоцитов, электронная микроскопия, синдром серых тромбоцитов, дефицит пула хранения тромбоцитов

Обыденный С.И. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022; 21 (3): 142–146. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-142-146

© 2022 by «D. Rogachev NMRCPhOI»

Received 12.05.2022

Accepted 27.06.2022

## The electron microscopy contribution to platelet structural pathology investigation

S.I. Obydenyi<sup>1, 2</sup>, I.I. Kireev<sup>3</sup>, M.A. Panteleev<sup>1-3</sup>

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

<sup>2</sup>Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, RAS, Moscow

<sup>3</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow

This article discusses the role of electron microscopy in the diagnosis and study of morphological changes that cause platelet structural abnormalities in a variety of congenital diseases. Morphological abnormalities can be divided into the abnormalities of the platelet cytoskeleton, of alpha and dense granules, and membrane abnormalities. Our paper describes ultrastructural platelet defects in Wiskott–Aldrich syndrome, MYH9-associated syndromes, gray platelet syndrome, Hermansky–Pudlak syndrome, Paris–Trousseau syndrome, Chediak–Higashi syndrome.

**Key words:** platelet morphology, electron microscopy, gray platelet syndrome, platelet storage pool deficiency

Obydenyi S.I., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (3): 142–146.

DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-142-146

**Correspondence:**  
Sergey I. Obydenyi,  
a researcher at the Laboratory  
of Cell Hemostasis and Thrombosis,  
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: sergey.obydennyi@fccho-moscow.ru

**Ф**ункция тромбоцитов – организация тромба в месте повреждения сосудистой стенки. Тромбоциты имеют форму диска диаметром 2,5 мкм и толщиной 0,5 мкм, не содержат ядра, являются самой маленькой клеткой крови, а точнее клеточным фрагментом мегакариоцита – клетки-предшественника. Циркулируют тромбоциты в неактивированном состоянии, и в ответ на взаимодействие с агонистами запускают выполнение своего предназначения, приступая к адгезии к месту повреждения и агрегации с соседними тромбоцитами, тем самым формируя тромб. Активаторы тромбоцитов делятся на сильные и слабые. К сильным относят коллаген, фибриллярный белок межклеточного матрикса, взаимодействующий с тромбоцитом через гликопротеин VI, и тромбин, действующий через рецепторы PAR1 и PAR4, находящийся в плазме в

неактивной форме протромбина. Также тромбоциты могут быть обратимо активированы слабыми активаторами, такими как аденозиндифосфат и тромбоксан A2.

Каждый тромбоцит обладает комплектом специализированных органелл, называемых альфа-гранулами, плотными гранулами и лизосомами, содержащих модуляторы и активные вещества, секретируемые во внеклеточное пространство при активации и помогающие плазменному звену свертывания и стимуляции соседних тромбоцитов.

При секреции гранул часть содержимого растворяется во внеклеточной среде, а часть встраивается в плазматическую мембрану тромбоцита. Средний размер плотных гранул составляет 150 нм, они формируются в зреющих мегакариоцитах и постепенно наполняются нуклеотидами и серото-

нином [1]. Их содержимое – низкомолекулярные небелковые соединения: аденозинтрифосфат, аденозиндифосфат, гуанозинтрифосфат, гуанозиндифосфат, серотонин, гистамин, ионы кальция и магния, а также некоторые мембранные молекулы, такие как Р-селектин и др. Альфа-гранулы и лизосомы тоже созревают в период созревания мегакариоцита. Средний размер альфа-гранул составляет 200–400 нм, лизосом – 175–250 нм. В альфа-гранулах содержатся крупные белки, играющие важную роль в плазменном звене свертывания (фибриноген, факторы V, VII, XI, XIII), воспалительных процессах, восстановлении тканей и взаимодействии между клетками и матриксом. Секрецию плотных и альфа-гранул можно отследить по появлению Р-селектина на поверхности активированных тромбоцитов [2, 3]. Остальное содержимое тромбоцита – несколько митохондрий, компоненты цитоскелета (микротрубочки и актиновые филаменты), распределенные и ассоциированные с гранулами, большое количество гликогена в качестве энергетического запаса клетки и сложная мембранная система. Последняя состоит из 2 структур: открытой канальцевой системы (ОКС), которая является посредником между цитозолем и внешней средой, и плотной трубчатой системы (ПТС), содержащей важные метаболические ферменты. Митохондрии и ПТС вовлечены в метаболические процессы. ПТС представляет собой эндомембранную систему, в которой хранится кальций и ряд важных для регуляции активации тромбоцита ферментов. Эта органелла сформирована из шероховатого эндоплазматического ретикула мегакариоцита, представляет собой продолговатую нерегулярную структуру с утолщенным центром. В отличие от гранул она находится на периферии клетки в окрестностях микротрубочек. ПТС на электронных микрофотографиях имеет специфическое окрашивание, сходное с цитоплазмой, в то время как каналы ОКС выглядят пустыми. ПТС в отличие от ОКС не имеет коммуникации с плазмой или мембранами гранул. В ПТС содержится аденилатциклаза и около 30% всего запаса ионов кальция – 2 важных регулятора активации тромбоцита.

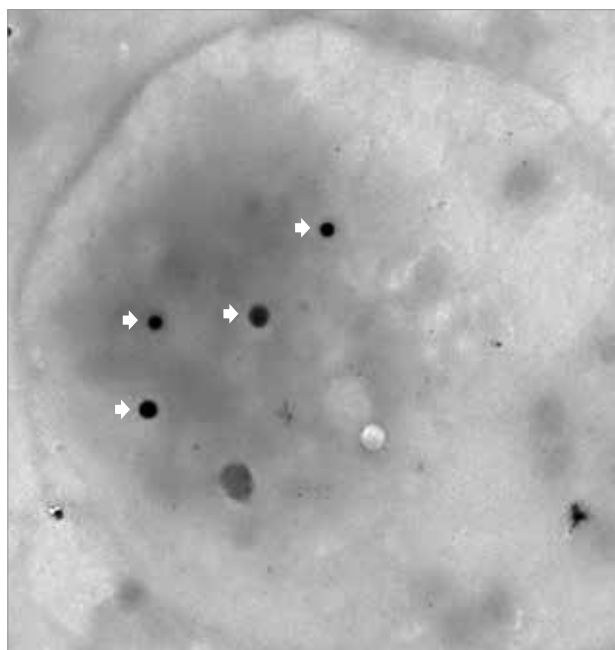
Методом, наиболее подходящим для исследования ультраструктуры внутриклеточных компонентов, является электронная микроскопия, благодаря разрешению до десятых долей нанометра. Электронная микроскопия зародилась в 1930-е годы и впервые была применена для исследования тромбоцитов в конце 1940-х годов. Электронная микроскопия разделяется на 2 основных типа: растровую (сканирующую), при которой происходит сканирование поверхности образца пучком электронов и собранный отраженный сигнал от каждой точки формирует изображение, и просвечивающую (транс-

миссионную), при которой нарезанный на ультратонкие срезы толщиной около 100 нм образец просвечивается пучком электронов насквозь, и по прошедшим/непрошедшим сквозь образец электронам получается фотография внутриклеточных структур.

Для исследования тромбоцитов важным этапом является аккуратная пробоподготовка, так как их активация может самопроизвольно произойти от понижения температуры или механического воздействия и привести к выбросу гранул. Для клинической оценки тромбоцитов в основном используют 2 вида пробоподготовки: для исследования только плотных гранул или полноценное исследование морфологии тромбоцита. В первом случае клетки в богатой тромбоцитами плазме на несколько минут наносят на сетку для электронной микроскопии без фиксации, заключения в смолу и контрастирования, а затем несут на электронный микроскоп. Съемка должна быть произведена в первые 2 дня, так как без фиксации наступает быстрое ухудшение качества образца. Такая методика позволяет посчитать только количество плотных гранул в тромбоците (рисунки 1), морфологические детали при данном тесте получить не удастся. Серьезным недостатком является необходимость быстрого доступа к электронному микроскопу. Современные рекомендации по определению и подсчету плотных гранул в тромбоците показывают, что на клетку приходится в среднем по 2–4 плотные гранулы [4].

**Рисунок 1**  
Плотные гранулы в тромбоците (отмечены стрелками). Просвечивающая электронная микроскопия,  $\times 5000$

**Figure 1**  
Dense granules in a platelet (arrows). Transmission electron microscopy,  $\times 5000$





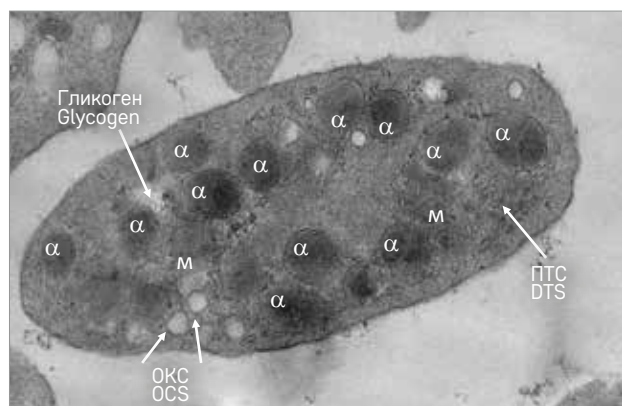
Полноценное исследование морфологии тромбоцита включает в себя предварительную фиксацию глутаровым альдегидом, постфиксацию тетраоксидом осмия, дегидратацию образца, заключение его в смолу с последующей полимеризацией. Далее образец нарезается на срезы толщиной 70–100 нм, контрастируется солями тяжелых металлов [5] и отправляется на электронную микроскопию (рисунк 2).

#### Рисунок 2

Срез тромбоцита. Просвечивающая электронная микроскопия,  $\times 6000$   
 $\alpha$  – альфа-гранулы; м – митохондрии

Figure 2

A thin section of a platelet. Transmission electron microscopy,  $\times 6000$   
 $\alpha$  – alpha granules; m – mitochondria; OCS – open canalicular system; DTS – dense tubular system



Морфологические нарушения могут быть разделены на патологии цитоскелета тромбоцитов, альфа- и плотных гранул и изменения мембраны. Далее рассматриваются описания наиболее часто встречающихся нарушений.

#### Синдром серых тромбоцитов

Впервые синдром серых тромбоцитов был описан в 1970 г. [6]. Для него характерен дефицит альфа-гранул в тромбоцитах. Общими симптомами являются кровотечения, петехии, тромбоцитопения. Кровотечения чаще умеренные и реже незначительные. Ответ на активаторы агрегации тромбоцитов у разных пациентов существенно различается, из-за чего общие признаки выделить не удастся. Патология клеток крови: количество тромбоцитов находится в диапазоне от 20 до 160 тыс в 1 мкл [7]. В окрашенном мазке крови тромбоциты имеют специфический сероватый цвет. Исследование морфологии показало увеличенный размер тромбоцитов и отсутствие альфа-гранул. При помощи антител с частицами золота было установлено, что мембранные белки в альфа-гранулах серых тромбоцитов содержат Р-селектин [8], но в них нет внутреннего белкового наполнения [9–12].

В таких же экспериментах с мегакариоцитами было показано, что синтез альфа-гранулярных

белков в них происходит, но белки не достигают альфа-гранул, а поступают наружу в костный мозг, что считается причиной возникновения миелофиброза у пациентов с этим синдромом [7]. Наличие Р-селектина в мембранах дефектных гранул, по которому традиционно измеряют степень выброса гранул тромбоцитов, осложняет диагностику этого заболевания методами проточной цитометрии. Электронную микроскопию часто используют для подтверждения данного синдрома, так как она позволяет непосредственно увидеть количество альфа-гранул и наличие/отсутствие их наполнения. Гранулы с дефектами выглядят, как вакуоли диаметром с нормальные гранулы. Количество плотных гранул не изменено.

#### Синдром Пари–Труссо

Первый случай синдрома Пари–Труссо описан в 1993 г. [13]. У пациентов наблюдались незначительные геморрагические осложнения и тромбоцитопения. Синдром связан с делецией в хромосоме 11q. Позже выяснилось, что синдром Труссо встречается у 94% пациентов с синдромом Якобсена [14].

Патология клеток крови: часть тромбоцитов были большего размера с гигантской гранулой красного цвета при окрашивании по Гимзе. Агрегация и сроки жизни были в норме, но в костном мозге было обнаружено увеличение числа мегакариоцитов в несколько раз. Исследование ультраструктуры на электронном микроскопе показало, что в тромбоцитах встречается до нескольких гигантских гранул с таким же наполнением, как у альфа-гранул, что было подтверждено антителами с частицами золота к Р-селектину, гликопротеину IIbIIIa, фибриногену и фактору фон Виллебранда. Гигантские гранулы формировались путем слияния нескольких альфа-гранул, тем самым образуя гигантскую органеллу. Активированные тромбоциты с гигантскими гранулами оказались не способны осуществлять секрецию их содержимого. При этом большинство тромбоцитов оставались нормальными, обеспечивая соответствующие результаты агрегации. В мегакариоцитах наблюдались нарушения созревания гранул, а также высокий уровень лизиса, предположительно вносящий вклад в тромбоцитопению [15].

#### Синдром Германского–Пудлака

Дефициты пула хранения тромбоцитов представляют собой целый ряд заболеваний, общими признаками которых являются удлиненное время кровотечения и нарушение выброса веществ из плотных гранул по причине их сниженного количества или отсутствия в них содержимого. Наиболее распространенными являются синдром Германского–Пудлака и синдром Чедиака–Хигаши, для обоих



характерны проявления альбинизма. Обе эти патологии вызваны мутациями в разных генах. Синдром Германского–Пудлака может быть вызван мутацией в генах белков HPS, составляющих белковый комплекс BLOC и участвующих в биогенезе лизосом и транспортёрке белков [16]. Для подтверждения синдрома Германского–Пудлака обязательным признаком является отсутствие плотных гранул в тромбоците.

### **Синдром Чедиака–Хигаши**

Данный синдром вызван мутацией в гене *LYST*, регулирующем лизосомальный транспорт. Патология клеток крови: в результате мутации в тромбоцитах наблюдаются крупные лизосомы [17] и сниженное количество плотных гранул [18]. Альфа-гранулы остаются в нормальных количествах [19]. Для всех остальных содержащих гранулы клеток характерно наличие крупных гранул лизосомальной природы, что не является нормой [20].

### **Синдром Бернара–Сулье**

Тромбоциты при синдроме Бернара–Сулье имеют гигантский размер, сопоставимый с эритроцитами, и дефект в функциональности или количестве рецептора адгезии к фактору фон Виллебранда GPIb/V/IX, в результате чего у тромбоцитов нарушена адгезия [21]. Патология клеток крови: тромбоциты помимо гигантского размера обладают расширенной ОКС, из-за чего на фотографиях тромбоциты имеют структуру швейцарского сыра [22].

### **MYH9-ассоциированные синдромы**

MYH9-ассоциированные синдромы – это заболевания (синдром Фехтнера, синдром Эпштейна, аномалия Мэя–Хегглина, синдром Себастьяна), связанные с мутацией в гене миозина *MYH9* и вызывающие макротромбоцитопению [23]. В остальном тромбоциты описываются как нормальные, а у пациентов могут быть незначительные кровотечения. Помимо тромбоцитов у этого семейства заболеваний могут быть обнаружены нейтрофилы с включениями в цитоплазму, похожими на тельца Деле.

### **Синдром Вискотта–Олдрича**

Другое заболевание, вызванное мутацией в гене белка WASP, участвующего в ветвлении актина, наоборот, вызывает микротромбоцитопению [24].

Патология клеток крови: тромбоцитов в крови может быть очень мало, они подвержены ускоренной клеточной гибели и значительно мельче нормальных клеток. По функциональным тестам тромбоциты несильно отличаются от нормы [25]. Главным риском для пациентов с синдромом Вискотта–Олдрича является низкая концентрация тромбоцитов, способная привести к летальному исходу при кровотечениях.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В данной статье приведены основные нарушения строения тромбоцитов, выявляемые при помощи электронной микроскопии. Электронная микроскопия в клинической диагностике тромбоцитов играет важную роль при нарушениях, связанных с плотными и альфа-гранулами, так как это единственный метод, позволяющий визуализировать и достоверно определять их состояние и количество. В меньшей степени электронная микроскопия применяется для подтверждения нарушений цитоскелета или мембран. Необходимость дорогостоящего оборудования для электронной микроскопии и сложность процедур пробоподготовки материала препятствуют широкому применению этих методик в медицине, но главное преимущество, которое нельзя недооценивать, – это простота и наглядность визуальной оценки.

## **БЛАГОДАРНОСТЬ**

Работа выполнена с использованием оборудования Центра передового опыта Nikon НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского и Центра коллективного пользования «Электронная микроскопия в науках о жизни» МГУ им. М.В. Ломоносова, программы развития МГУ им. М.В. Ломоносова ПНР 5.13 и фонда «Наука – детям».

## **ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ**

Работа поддержана грантом Российского научного фонда, проект №21-75-00109.

## **КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ**

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

## **ORCID**

**Obyednyy S.I.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2930-8768>

**Kireev I.I.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9252-6808>

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

## Литература

1. Youssefian T., Cramer E.M. Megakaryocyte dense granule components are sorted in multivesicular bodies. *Blood* 2000; 95 (12): 4004–7.
2. Johnston G.I., Cook R.G., McEver R.P. Cloning of GMP-140, a granule membrane protein of platelets and endothelium: sequence similarity to proteins involved in cell adhesion and inflammation. *Cell* 1989; 56 (6): 1033–44.
3. Larsen E., Celi A., Gilbert G.E., Furie B.C., Erban J.K., Bonfanti R., et al. PADGEM protein: a receptor that mediates the interaction of activated platelets with neutrophils and monocytes. *Cell* 1989; 59 (2): 305–12.
4. Chen D., Uhl C.B., Bryant S.C., Krumwiede M., Barness R.L., Olson M.C., et al. Diagnostic laboratory standardization and validation of platelet transmission electron microscopy. *Platelets* 2018; 29 (6): 574–82.
5. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol* 1963; 17 (1): 208.
6. Raccuglia G. Gray platelet syndrome: a variety of qualitative platelet disorder. *Am J Med* 1971; 51 (6): 818–28.
7. Nurden A.T., Nurden P. The gray platelet syndrome: clinical spectrum of the disease. *Blood Rev* 2007; 21 (1): 21–36.
8. Rosa J., George J.N., Bainton D.F., Nurden A.T., Caen J.P., McEver R.P. Gray platelet syndrome. Demonstration of alpha granule membranes that can fuse with the cell surface. *J Clin Invest* 1987; 80 (4): 1138–46.
9. Gerrard J.M., Phillips D.R., Rao G.H., Plow E.F., Walz D.A., Ross R., et al. Biochemical studies of two patients with the gray platelet syndrome. Selective deficiency of platelet alpha granules. *J Clin Invest* 1980; 66 (1): 102–9.
10. Nurden A.T., Kunicki T.J., Dupuis D., Soria C., Caen J.P. Specific protein and glycoprotein deficiencies in platelets isolated from two patients with the gray platelet syndrome. *Blood* 1982; 59 (4): 709–18.
11. Srivastava P., Powling M.J., Nokes T.J., Patrick A.D., Dawes J., Hardisty R.M. Grey platelet syndrome: studies on platelet alpha-granules, lysosomes and defective response to thrombin. *Br J Haematol* 1987; 65 (4): 441–6.
12. Levy-Toledano S., Caen J.P., Breton-Gorius J., Rendu F., Cywiner-Golenz C., Dupuy E., et al. Gray platelet syndrome:  $\alpha$ -granule deficiency: its influence on platelet function. *J Lab Clin Med* 1981; 98 (6): 831–48.
13. Favier R., Douay L., Esteva B., Portnoi M.F., Gaulard P., Lecompte T., et al. A novel genetic thrombocytopenia (Paris-Trousseau) associated with platelet inclusions, dysmegakaryopoiesis and chromosome deletion AT 11q23. *C R Acad Sci III* 1993; 316 (7): 698–701.
14. Grossfeld P.D., Mattina T., Lai Z., Favier R., Jones K.L., Cotter F., et al. The 11q terminal deletion disorder: a prospective study of 110 cases. *Am J Med Genet A* 2004; 129 (1): 51–61.
15. Breton-Gorius J., Favier R., Guichard J., Cherif D., Berger R., Debili N., et al. A new congenital dysmegakaryopoietic thrombocytopenia (Paris-Trousseau) associated with giant platelet alpha-granules and chromosome 11 deletion at 11q23. *Blood* 1995; 85 (7): 1805–14.
16. Di Pietro S.M., Falcón-Pérez J.M., Tenza D., Setty S.R.G., Marks M.S., Raposo G., et al. BLOC-1 interacts with BLOC-2 and the AP-3 complex to facilitate protein trafficking on endosomes. *Mol Biol Cell* 2006; 17 (9): 4027–38.
17. White J. Platelet microtubules and giant granules in the Chédiak-Higashi syndrome. *Am J Med Technol* 1978; 44 (4): 273–8.
18. Apitz-Castro R., Cruz M.R., Ledezma E., Merino F., Ramirez-Duque P., Dangelmeier C., et al. The storage pool deficiency in platelets from humans with the Chédiak-Higashi syndrome: study of six patients. *Br J Haematol* 1985; 59 (3): 471–3.
19. Rendu F., Breton-Gorius J., Lebre M., Klebanoff C., Buriot D., Griscelli C., et al. Evidence that abnormal platelet functions in human Chédiak-Higashi syndrome are the result of a lack of dense bodies. *Am J Pathol* 1983; 111 (3): 307.
20. White J.G., The Chédiak-Higashi syndrome: a possible lysosomal disease. *Blood* 1966; 28 (2): 143–56.
21. López J.A., Andrews R.K., Afshar-Kharghan V., Berndt M.C. Bernard-soulier syndrome. *Blood* 1998; 91 (12): 4397–418.
22. Smith T.P., Dodds W.J., Tartaglia A.P. Thrombasthenic-thrombopathic thrombocytopenia with giant, "Swiss-cheese" platelets: a case report. *Ann Intern Med* 1973; 79 (6): 828–34.
23. Seri M., Pecci A., Di Bari F., Cusano R., Savino M., Panza E., et al. MYH9-related disease: May-Hegglin anomaly, Sebastian syndrome, Fechtner syndrome, and Epstein syndrome are not distinct entities but represent a variable expression of a single illness. *Medicine (Baltimore)* 2003; 82 (3): 203–15.
24. Symons M., Derry J.M., Karlak B., Jiang S., Lemahieu V., McCormick F., et al. Wiskott-Aldrich syndrome protein, a novel effector for the GTPase CDC42Hs, is implicated in actin polymerization. *Cell* 1996; 84 (5): 723–34.
25. Obyednyy S.I., Artemenko E.O., Sveshnikova A.N., Ignatova A.A., Varlamova T.V., Gambaryan S., et al. Mechanisms of increased mitochondria-dependent necrosis in Wiskott-Aldrich syndrome platelets. *Haematologica* 2020; 105 (4): 1095–106.

# Правила оформления статей

**1. Статья должна быть представлена в электронном виде (в отдельных файлах: текст статьи со списком литературы, таблицы, графики, рисунки, подписи к рисункам, резюме).**

Все страницы пронумерованы.

Шрифт – Times New Roman, 14 пунктов, 1,5 интервала.

**2. На 1-й странице: название статьи, инициалы и фамилии всех авторов, полное название учреждений, в которых выполнена работа, их полный адрес с индексом.**

В конце статьи: контактные телефоны, рабочий адрес с указанием индекса, факс, адрес электронной почты и фамилия, имя, отчество, занимаемая должность, ученая степень, ученое звание авторов.

**3. Объем статей: оригинальная – не более 12 стр.; описание наблюдений, заметки из практики – не более 5 стр.; обзор литературы – до 20 стр.**

К статье должно быть приложено резюме на русском и английском языках: название статьи, фамилии и инициалами авторов, название учреждений, содержание работы; для оригинальных статей – структурированное резюме (введение, материалы и методы, результаты и т.д.). Объем резюме – до 1500 знаков с пробелами; количество ключевых слов – до 10.

## **4. Иллюстративный материал:**

- фотографии должны быть контрастными; рисунки, графики и диаграммы – четкими;

- фотографии представляются в оригинале или электронном виде в формате TIFF, JPG, CMYK с разрешением не менее 300 dpi (точек на дюйм);

- графики, схемы и рисунки – в формате EPS. Adobe Illustrator 7.0-10.0.

- Все рисунки должны быть пронумерованы и снабжены подрисуночными подписями на отдельном листе, фрагменты рисунка обозначаются строчными буквами русского алфавита. Все сокращения и обозначения, использованные на рисунке, должны быть расшифрованы в подрисуночной подписи;

- все таблицы пронумерованы, иметь название; все сокращения расшифрованы в примечании к таблице;

- ссылки на таблицы, рисунки и др. иллюстративные материалы приводятся по тексту статьи в круглых скобках.

## **5. Единицы измерений даются в СИ.**

Аббревиатуры в тексте полностью расшифрованы при первом употреблении. Использование необ-

щепринятых сокращений не допускается. Название генов пишется курсивом, название белков – обычным шрифтом.

## **6. Список цитируемой литературы:**

- список ссылок в порядке цитирования; все источники пронумерованы, их нумерация должна строго соответствовать нумерации в тексте статьи;

- для каждого источника необходимо указать: фамилии и инициалы авторов (если авторов более 6, указывают первые 6, далее «и др.» в русском или «et al.» – в английском тексте);

- при ссылке на статьи из журналов указывают название статьи; журнала, год, том, номер выпуска, страницы;

- при ссылке на монографии указывают полное название книги, место издания, название издательства, год издания;

- при ссылке на авторефераты диссертаций – полное название работы, докторская или кандидатская, год и место издания;

- при ссылке на данные, полученные из Интернета, указывают электронный адрес цитируемого источника;

- все ссылки на литературные источники печатают арабскими цифрами в квадратных скобках: например [5];

- количество цитируемых работ: в оригинальных статьях желательно не более 20-25 источников, в обзорах литературы – не более 60.

**7. Представление в редакцию ранее опубликованных статей не допускается.**

**8. Все статьи, в том числе подготовленные аспирантами и соискателями ученой степени кандидата наук по результатам собственных исследований, принимаются к печати бесплатно, в порядке общей очереди.**

Статьи, не соответствующие данным требованиям, к рассмотрению не принимаются.

Все поступающие статьи рецензируются.

Присланные материалы обратно не возвращаются.

Редакция оставляет за собой право на редактирование статей, представленных к публикации.

Электронная почта: [journal@fnkc.ru](mailto:journal@fnkc.ru)