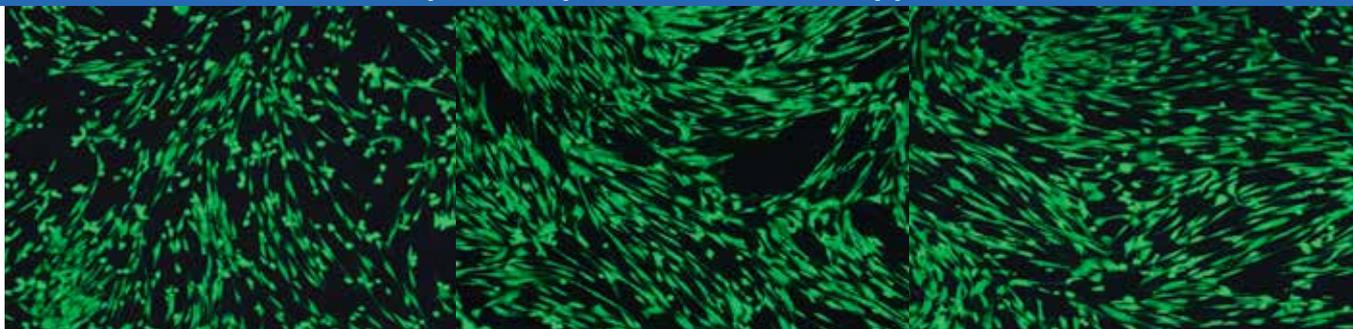


Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии

№ 4 | 23 | 2024

научно-практический журнал



Морфология культур мезенхимальных стволовых клеток костного мозга при окрашивании CFSE (90 ч культивирования). Объектив ×10.
Из статьи А.А. Дудоровой и соавт., с. 78

14

Эпидемиология приобретенной апластической анемии у детей в Российской Федерации

Epidemiology of acquired aplastic anemia in children in the Russian Federation

23

Транзиторный аномальный миелопоэз, миелодиспластический синдром и острый миелоидный лейкоз у детей с синдромом Дауна

Transient abnormal myelopoiesis, myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia in children with Down syndrome

95

Иммуноадаптивный эффект индуцированной инфузией донорских лимфоцитов острой реакции «трансплантат против хозяина» у детей с острыми лейкозами

Immunoadoptive effect of donor lymphocyte infusion-induced acute graft-versus-host disease in children with acute leukemia



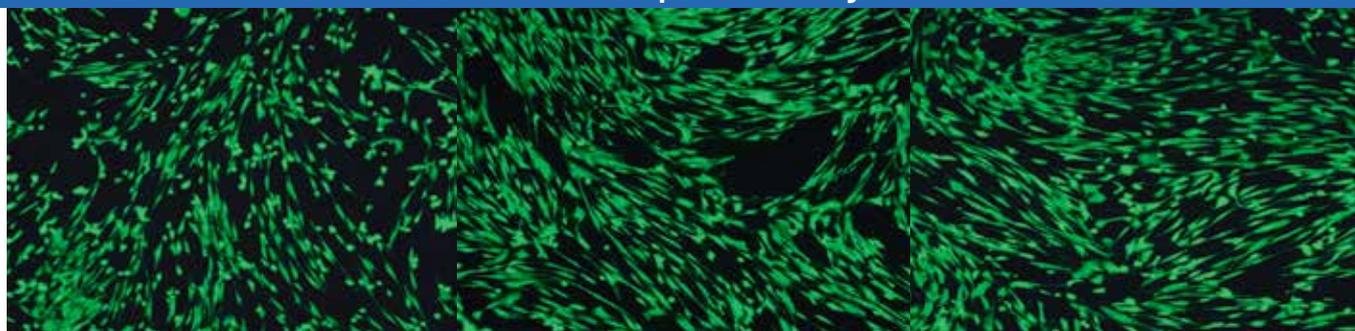
НАУКА –
ДЕТЯМ



Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology

№ 4 | 23 | 2024

scientific and practical journal



Morphology of bone marrow-derived mesenchymal stem cells cultures stained with CSFE (90 hours of culture). Objective lens $\times 10$. From the article by A.A. Dudorova et al., p. 78

14

Epidemiology of acquired aplastic anemia in children in the Russian Federation

23

Transient abnormal myelopoiesis, myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia in children with Down syndrome

95

Immunoadoptive effect of donor lymphocyte infusion-induced acute graft-versus-host disease in children with acute leukemia



НАУКА —
ДЕТЯМ



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

Information for Subscribers

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

Subject area and/or specialty

An educational medium. An informational research and clinical medical journal featuring original research articles, literature reviews, lectures on relevant topics of pediatric hematology, oncology and immunopathology, and advertisements published in accordance with the Advertising Law of the Russian Federation.

Manuscript Submissions

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

Advertising

To place an advertisement or receive additional information, please contact us via e-mail: 9982222@gmail.com

Commercial Reprints

For commercial reprints, please contact us via e-mail: 9982222@gmail.com

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 © 2024 by «Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology» («D. Rogachev NMRCPHOI»). 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*: 17 Vereyskaya St., Room 311–1, Moscow 121357, Russia

For further information on rights and permissions, please contact us via e-mail: 9982222@gmail.com

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

Информация для подписчиков

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

Примерная тематика и (или) специализация

Образовательное СМИ. Информационный научно-практический медицинский журнал, публикующий оригинальные исследования, обзоры литературы, лекции, посвященные актуальным вопросам детской гематологии, онкологии и иммунопатологии, рекламу в соответствии с законодательством Российской Федерации о рекламе.

Подача рукописей

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

Размещение рекламных материалов

По вопросам размещения рекламы обращайтесь в редакцию. E-mail: 9982222@gmail.com

Репринт

По вопросам репринта обращайтесь в редакцию. E-mail: 9982222@gmail.com

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

© 2024 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, 121357, Москва, ул. Верейская, 17, пом. 311, комната 1

Для получения более подробной информации, касающейся авторских прав и разрешений, просим связаться с нами по электронной почте: 9982222@gmail.com

Founders

D. Rogachev NMRCPHOI, Science for Children Foundation for Support and Development in Pediatric Hematology, Oncology and Immunology.

Editorial office

Editor-in-Chief – G.A. Novichkova
Address: 17 Vereyskaya St., Room 311–1, Moscow 121357
Tel.: +7 (495) 287-65-70, ext. 5546
www.hemoncim.com
E-mail: journal@fnkc.ru
Advertising department: +7 (495) 211-04-82

The Journal is registered in the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology, and Mass Media. Registration number is ПИ № ФС77–85163 от 27.04.2023. The journal was founded in 2002. It is published in Russian and English. Distribution area: the Russian Federation, foreign countries.

Publisher

LLC «Science and education».
Address: 28 Podsozenskiy Lane, Bldg. 1, Moscow 101000

Printing office

ART LTD.
Address: 17 Bagaeva St., room 116, Ivanovo 153000

Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2024
Vol. 23. No.4. Date of publication 06.12.2024
The circulation is 3000 copies. The price is free.

16+

Учредители

ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, фонд поддержки и развития в области детской гематологии, онкологии и иммунологии «Наука – детям».

Редакция журнала

Главный редактор – Г.А. Новичкова
Адрес: 121357, Москва, ул. Верейская, 17, пом. 311, комната 1
Тел.: +7 (495) 287-65-70, доб. 5546
www.hemoncim.com
E-mail: journal@fnkc.ru
По вопросам рекламы: +7 (495) 211-04-82

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Регистрационный номер ПИ № ФС77–85163 от 27.04.2023. Журнал основан в 2002 году. Языки издания: русский, английский. Территория распространения: Российская Федерация, зарубежные страны.

Издатель

ООО «Наука и образование».
Адрес: 101000, Москва, Подсоленский пер., 28, стр. 1

Типография

ООО «АРТ».
Адрес: 153000, Иваново, ул. Багаева, 17, оф. 116

Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2024.
Том 23. №4. Дата выхода 06.12.2024
Тираж 3000 экз. Цена свободная.

16+

ВОПРОСЫ ГЕМАТОЛОГИИ/ОНКОЛОГИИ И ИММУНОПАТОЛОГИИ В ПЕДИАТРИИ

Научно-практический журнал

№ 4 | том 23 | 2024



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

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

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

Вельте К.
профессор, Тюбинген, Германия

Виллих Н.
профессор, Мюнстер, Германия

Грачев Н.С.
доктор медицинских наук, Москва, Россия

Карачунский А.И.
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Крыжановский О.И.
кандидат медицинских наук, Сан-Франциско, США

Липтон Дж.
профессор, Нью-Йорк, США

Мякова Н.В.
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия

Накагавара А.
профессор, Чиба, Япония

Окс Г.
профессор, Сиэтл, 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

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

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

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

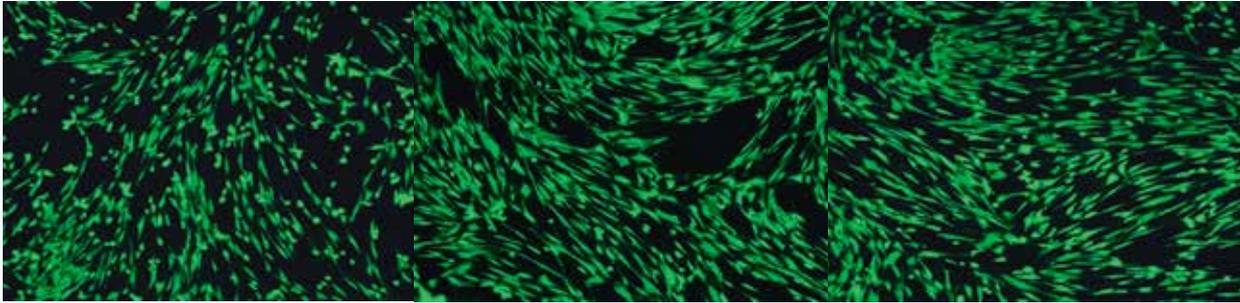
Henze G.
Professor, Berlin, Germany

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

Содержание

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, 2024, 23 (4)

Оформление обложки:



Морфология культур мезенхимальных стволовых клеток костного мозга при окрашивании CSFE (90 ч культивирования). Объектив ×10.

Из статьи А.А. Дудоровой и соавт., с. 78

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- | | |
|--|-----------|
| <p>Эпидемиология приобретенной апластической анемии у детей в Российской Федерации</p> <p>Т.Ю. Салимова, О.В. Горонкова, А.В. Процветкина, А.А. Масчан, Г.А. Новичкова</p> | <p>14</p> |
| <p>Транзиторный аномальный миелопоэз, миелодиспластический синдром и острый миелоидный лейкоз у детей с синдромом Дауна</p> <p>З.А. Абашидзе, И.И. Калинина, Л.А. Хачатрян, М.С. Васильева, М.В. Гаськова, Е.А. Зеркаленкова, А.Н. Казакова, Ю.В. Ольшанская, Е.В. Михайлова, А.М. Попов, К.А. Воронин, А.А. Масчан, Г.А. Новичкова</p> | <p>23</p> |
| <p>Тромбоцитопения новорожденных: наблюдательное исследование</p> <p>Е.В. Сунцова, Е.В. Дерипапа, Е.В. Райкина, А.А. Мухина, Ю.А. Родина, Д.Д. Байдильдина, Л.А. Хачатрян, У.Н. Петрова, К.С. Антонова, З.А. Абашидзе, Д.В. Федорова, А.М. Киева, М.А. Курникова, М.В. Гаськова, А.А. Масчан</p> | <p>34</p> |
| <p>Оценка безопасности серийных интравитреальных введений противовирусных препаратов с забором внутриглазной жидкости при цитомегаловирусном ретините у детей-реципиентов аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток</p> <p>Б.С. Першин, А.Б. Смирнова, Е.В. Розанцева, О.Н. Мироненко, А.А. Масчан</p> | <p>48</p> |
| <p>Анализ функции ингибирования тромбоцитов по фосфорилированию внутриклеточного цитоскелетного белка VASP в цельной крови во времени</p> <p>Е.О. Артеменко, И.А. Чабин, М.А. Пантелеев</p> | <p>54</p> |
| <p>The retrospective study of cost-effectiveness for prophylactic and on-demand treatment of the pediatric patients with hemophilia A in Iran</p> <p>Tina Alidoust, Mohammad Bahadoram, Arash Alghasi, Mohammad-Reza Mahmoudian-Sani, Esma'il Akade, Hamid Nilsaz-Dezfouli, Bijan Keikhaei</p> | <p>58</p> |

- Особенности диагностики болезни Виллебранда 2В типа у детей** 62
Е.М. Головина, А.В. Полетаев, Е.А. Серёгина, Д.В. Фёдорова, А.В. Пшонкин, П.А. Жарков
- Haptoglobin polymorphisms and their relationship to the activities of liver function enzymes in sickle cell anemia and hepatitis C patients** 72
Sally Salih Jumaa, Afrah Abid Maktoof, Rasha Salih Nuhair
- Определение оптимальных условий экспансии мезенхимальных стволовых клеток костного мозга человека с помощью оборудования для прижизненного мониторинга состояния культур клеток** 78
А.А. Дудорова, М.В. Ефименко, Р.Д. Хисматуллина, М.А. Масчан, И.Н. Казьмина, М.А. Илюшина, Е.Ю. Осипова
- Особенности гематологических показателей у недоношенных новорожденных в раннем детском возрасте** 84
П.Е. Ходкевич, О.С. Федорова, К.В. Куликова, И.А. Деев
- Anti-thyroid antibodies in children with immune thrombocytopenia** 90
Seham M. Ragab, Asmaa A. Mahmoud, Amira M.F. Shehata, Eman Hamdy Alsegaey
- Иммуноадаптивный эффект индуцированной инфузией донорских лимфоцитов острой реакции «трансплантат против хозяина» у детей с острыми лейкозами** 95
Н.В. Левковский, Л.А. Цветкова, О.В. Паина, А.В. Евдокимов, И.М. Бархатов, О.С. Епифановская, Е.В. Бабенко, Н.Е. Иванова, Ж.З. Рахманова, П.В. Кожокарь, А.А. Осипова, Т.Л. Гиндина, Е.В. Семенова, А.Д. Кулагин, Л.С. Зубаровская
- Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin in children with α -thalassemia major as a promising marker for predicting renal tubular impairment** 107
Fahima M. Hassan, Amira M.F. Shehata, Asmaa A. Mahmoud, Ahmed Abo Elmakarm, Doaa M. Elian
- Пятилетний опыт удаленной диагностики болезни Виллебранда в России** 112
А.В. Полетаев, П.А. Жарков, Е.А. Серёгина, М.В. Дубинина
- Оценка эффективности и безопасности заместительной терапии иммуноглобулином для подкожного введения 16,5% с использованием ручного метода инфузии у пациентов с врожденным дефектом иммунной системы: результаты мультицентрового проспективного исследования** 119
А.Я. Аведова, Е.В. Дерипапа, Ю.А. Родина, А.А. Мухина, Е.А. Латышева, Д.В. Юхачева, В.И. Бурлаков, Н.Ю. Кан, Д.В. Богданова, А.А. Моисеева, Н.Б. Кузьменко, З.А. Нестеренко, Е.А. Деордиева, А.Л. Огнева, В.О. Блудова, А.А. Роппельт, Д.С. Фомина, Н.В. Зиновьева, Ю.Н. Севостьянова, Л.Р. Кальметьева, Д.Д. Пролыгина, Л.Ю. Барычева, О.С. Селезнева, Н.В. Шахова, О.М. Лаба, Е.В. Власова, А.В. Горенкова, Е.В. Тимофеева, О.В. Трусова, М.Н. Гусева, Н.Б. Юдина, А.Х. Ибишева, З.В. Бамбаева, Д.В. Машковская, С.Н. Исакова, А.Р. Шакирова, Е.Ю. Селина, Т.В. Шилова, Е.С. Зубова, Е.В. Красилова, И.У. Хабаева, Е.В. Китова, А.Г. Манджиева, С.Ю. Старикова, Т.Б. Павлова, Э.Н. Тюлякова, П.А. Левин, А.Ю. Щербина

Особенности генетического разнообразия у пациентов детского возраста с врожденными дефектами иммунитета в России 131

Н.Б. Кузьменко, М.А. Алексенко, А.А. Мухина, Ю.А. Родина, М.С. Фадеева, Д.Е. Першин, А.М. Киева, Т.В. Варламова, Д.В. Юхачева, В.И. Бурлаков, Н.Ю. Кан, Е.В. Дерипапа, А.Л. Козлова, З.А. Нестеренко, А.Я. Аведова, А.А. Моисеева, Е.А. Деордиева, О.А. Швец, Е.А. Викторова, В.О. Блудова, А.Л. Огнева, Д.В. Богданова, И.В. Мерсиянова, Е.В. Райкина, М.А. Масчан, Г.А. Новичкова, Н.С. Грачёв, А.Ю. Щербина

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Железорезфрактерная железодефицитная анемия у детей: первые генетически подтвержденные случаи в России 138

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

Стеатогепатитный вариант гепатоцеллюлярной карциномы у ребенка (редкое клиническое наблюдение и обзор литературы) 144

Т.А. Шароев, Д.К. Нишонов, И.С. Мамедов, С.С. Жилина, О.А. Перевезенцев, Д.А. Скобеев, И.В. Золкина, М.И. Ткачева

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Роль тромбоцитов в процессах тромбовоспаления 152

Е.А. Мельникова, Н.С. Емельянов, Д.Ю. Нечипуренко

Витамин К-зависимая коагулопатия у новорожденных и детей первых месяцев жизни 162

Е.М. Головина, К.С. Асланян

Клинические проявления нарушения функций тромбомодулина 168

Д.А. Блескин, Е.М. Кольцова, Д.Ю. Нечипуренко

Влияние тромботических событий при челюстно-лицевой патологии детского возраста на результаты хирургического лечения 174

Н.П. Леонов, Д.Е. Павлова, П.Е. Трахтман, Е.А. Спиридонова

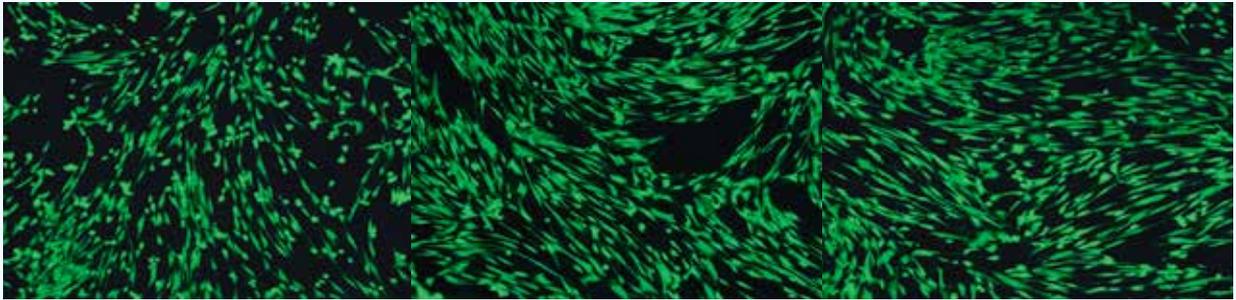
МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ

Тезисы Школы «Инфекционные осложнения в детской онкологии, гематологии и иммунологии. Проблемы диагностики и лечения» 183

Content

© 2024 «D. Rogachev NMRCPhO», 2024, 23 (4)

Cover design:



*Morphology of bone marrow-derived mesenchymal stem cells cultures stained with CSFE (90 hours of culture). Objective lens ×10.
From the article by A.A. Dudorova et al., p. 78*

ORIGINAL ARTICLE

- | | |
|---|-----------|
| <p>Epidemiology of acquired aplastic anemia in children in the Russian Federation</p> <p>T.Yu. Salimova, O.V. Goronkova, A.V. Protsvetkina, A.A. Maschan, G.A. Novichkova</p> | <p>14</p> |
| <p>Transient abnormal myelopoiesis, myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia in children with Down syndrome</p> <p>Z.A. Abashidze, I.I. Kalinina, L.A. Khachatryan, M.S. Vasilieva, M.V. Gaskova, E.A. Zerkalenkova, A.N. Kazakova, Yu.V. Olshanskaya, E.V. Mikhailova, A.M. Popov, K.A. Voronin, A.A. Maschan, G.A. Novichkova</p> | <p>23</p> |
| <p>Thrombocytopenia of newborns: an observational study</p> <p>E.V. Suntsova, E.V. Deripapa, E.V. Raykina, A.A. Mukhina, Yu.A. Rodina, D.D. Baydildina, L.A. Khachatryan, U.N. Petrova, K.S. Antonova, Z.A. Abashidze, D.V. Fedorova, A.M. Kieva, M.A. Kurnikova, M.V. Gaskova, A.A. Maschan</p> | <p>34</p> |
| <p>The assesement of the safety of serial intravitreal injections of antiviral drugs with intraocular fluid sampling for cytomegalovirus retinitis in pediatric recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation</p> <p>B.S. Pershin, A.B. Smirnova, E.V. Rozantseva, O.N. Mironenko, A.A. Maschan</p> | <p>48</p> |
| <p>Analysis of platelet inhibition function by measuring phosphorylation of the intracellular cytoskeleton protein VASP in whole blood over time</p> <p>E.O. Artemenko, I.A. Chabin, M.A. Panteleev</p> | <p>54</p> |
| <p>The retrospective study of cost-effectiveness for prophylactic and on-demand treatment of the pediatric patients with hemophilia A in Iran</p> <p>Tina Alidoust, Mohammad Bahadoram, Arash Alghasi, Mohammad-Reza Mahmoudian-Sani, Esma'il Akade, Hamid Nilsaz-Dezfouli, Bijan Keikhaei</p> | <p>58</p> |

- Diagnosis of type 2B von Willebrand disease in children** 62
E.M. Golovina, A.V. Poletaev, E.A. Seregina, D.V. Fedorova, A.V. Pshonkin, P.A. Zharkov
- Haptoglobin polymorphisms and their relationship to the activities of liver function enzymes in sickle cell anemia and hepatitis C patients** 72
Sally Salih Jumaa, Afrah Abid Maktoof, Rasha Salih Nuhair
- Identification of optimal conditions for the expansion of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells using tools for live-cell culture monitoring** 78
A.A. Dudorova, M.V. Efimenko, R.D. Khismatullina, M.A. Maschan, I.N. Kazmina, M.A. Ilyushina, E.Yu. Osipova
- Hematological parameters in preterm infants in early childhood** 84
P.E. Khodkevich, O.S. Fedorova, K.V. Kulikova, I.A. Deev
- Anti-thyroid antibodies in children with immune thrombocytopenia** 90
Seham M. Ragab, Asmaa A. Mahmoud, Amira M.F. Shehata, Eman Hamdy Alsegaey
- Immunoadoptive effect of donor lymphocyte infusion-induced acute graft-versus-host disease in children with acute leukemia** 95
N.V. Levkovsky, L.A. Tsvetkova, O.V. Paina, A.V. Evdokimov, I.M. Barkhatov, O.S. Epifanovskaya, E.V. Babenko, N.E. Ivanova, Zh.Z. Rakhmanova, P.V. Kozhokar, A.A. Osipova, T.L. Gindina, E.V. Semenova, A.D. Kulagin, L.S. Zubarovskaya
- Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin in children with α -thalassemia major as a promising marker for predicting renal tubular impairment** 107
Fahima M. Hassan, Amira M.F. Shehata, Asmaa A. Mahmoud, Ahmed Abo Elmakarm, Doaa M. Elian
- Five-year experience in remote diagnosis of von Willebrand disease in Russia** 112
A.V. Poletaev, P.A. Zharkov, E.A. Seregina, M.V. Dubinina
- An assessment of efficacy and safety of replacement therapy with subcutaneous immunoglobulin 16.5% administered by rapid push method in patients with inborn errors of immunity: the results of a prospective multicenter study** 119
A.Ya. Avedova, E.V. Deripapa, Yu.A. Rodina, A.A. Mukhina, E.A. Latysheva, D.V. Yukhacheva, V.I. Burlakov, N.Yu. Kan, D.V. Bogdanova, A.A. Moiseeva, N.B. Kuzmenko, Z.A. Nesterenko, E.A. Deordieva, A.L. Ogneva, V.O. Bludova, A.A. Roppelt, D.S. Fomina, N.V. Zinovieva, Yu.N. Sevostyanova, L.R. Kalmetyeva, D.D. Prolygina, L.Yu. Barycheva, O.S. Selezneva, N.V. Shakhova, O.M. Laba, E.V. Vlasova, A.V. Gorenkova, E.V. Timofeeva, O.V. Trusova, M.N. Guseva, N.B. Yudina, A.Kh. Ibisheva, Z.V. Bambaeva, D.V. Mashkovskaya, S.N. Isakova, A.R. Shakirova, E.Yu. Selina, T.V. Shilova, E.S. Zubova, E.V. Krasilova, I.U. Khabaeva, E.V. Kitova, A.G. Mandzhieva, S.Yu. Starikova, T.B. Pavlova, E.N. Tyulyakova, P.A. Levin, A.Yu. Shcherbina

Genetic diversity in pediatric patients with inborn errors of immunity in Russia 131

N.B. Kuzmenko, M.A. Alexenko, A.A. Mukhina, Yu.A. Rodina, M.S. Fadeeva, D.E. Pershin, A.M. Kieva, T.V. Varlamova, D.V. Yukhacheva, V.I. Burlakov, N.Yu. Kan, E.V. Deripapa, A.L. Kozlova, Z.A. Nesterenko, A.Ya. Avedova, A.A. Moiseeva, E.A. Deordieva, O.A. Shvets, E.A. Viktorova, V.O. Bludova, A.L. Ogneva, D.V. Bogdanova, I.V. Mersiyanova, E.V. Raykina, M.A. Maschan, G.A. Novichkova, N.S. Grachev, A.Yu. Shcherbina

CLINICAL OBSERVATION

Iron-refractory iron deficiency anemia in children: first genetically confirmed cases in Russia 138

M.A. Lunyakova, [V.G. Demikhov](#), N.V. Inyakova, E.V. Raykina

Steatohepatic variant of hepatocellular carcinoma in a child (a rare clinical case report and a literature review) 144

T.A. Sharoev, D.K. Nishonov, I.S. Mamedov, S.S. Zhilina, O.A. Perevesentsev, D.A. Skobeev, I.V. Zolkina, M.I. Tkacheva

LITERATURE REVIEW

The role of platelets in thromboinflammation 152

E.A. Melnikova, N.S. Emelyanov, D.Yu. Nechipurenko

Vitamin K-dependent coagulopathy in neonates and infants 162

E.M. Golovina, K.S. Aslanyan

Clinical manifestations of thrombomodulin dysfunction 168

D.A. Bleskin, E.M. Koltsova, D.Yu. Nechipurenko

The influence of thrombotic events in pediatric maxillofacial pathology on the results of surgical treatment 174

N.P. Leonov, D.E. Pavlova, P.E. Trakhtman, E.A. Spiridonova

CONFERENCE MATERIALS

Abstracts of the School “Infectious complications in pediatric oncology, hematology and immunology. Challenges in diagnosis and treatment” 183

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 07.11.2024
Принята к печати 29.11.2024



EDN: BRKFLP

Контактная информация:

Салимова Татьяна Юрьевна,
врач-детский онколог отделения детской гематологии/онкологии
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: tsalimova13@mail.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-14-22

Эпидемиология приобретенной апластической анемии у детей в Российской Федерации

Т.Ю. Салимова, О.В. Горонкова, А.В. Процветкина, А.А. Масчан, Г.А. Новичкова

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

Приобретенная апластическая анемия (ПАА) во всем мире остается редким заболеванием. Однако частота встречаемости ее в разных странах крайне вариабельна. В настоящей статье представлены результаты эпидемиологического исследования ПАА у детей в Российской Федерации. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Выполнен анализ эпидемиологических данных у пациентов с ПАА в возрасте от 0 до 18 лет, проходивших дистанционную диагностику в лабораториях ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России в период с 1 сентября 2017 г. по 31 декабря 2023 г., в рамках впервые проведенного в нашей стране регистрового исследования. В анализ вошли 582 пациента из 77 регионов Российской Федерации, охват детской популяции составил 97%. Средний показатель заболеваемости за 6 лет составил 3,1 случая на 1 млн детского населения в год. Медиана возраста пациентов – 10,2 года (диапазон 1–17,9 года). Большинство случаев ПАА приходилось на возрастные периоды 5–9 и 10–14 лет. В возрасте до 1 года не выявлено ни одного случая заболевания. Мальчиков было больше, чем девочек: 317 (54,5%) и 265 (45,5%) соответственно. По этиологии у 87% пациентов диагностирована идиопатическая ПАА, у 13% – гепатит-ассоциированная ПАА. Критерии сверхтяжелой формы ПАА выполнялись у 45,7% пациентов, тяжелой – у 38,8% и нетяжелой – у 15,5%. Сочетание ПАА с клоном пароксизмальной ночной гемоглобинурии диагностировано у 42,3% педиатрических пациентов. По показателю заболеваемости ПАА у детей Российская Федерация занимает среднее место между странами Европы и Азии. Основные проанализированные демографические показатели и характеристики заболевания сопоставимы с данными мировой литературы.

Ключевые слова: приобретенная апластическая анемия, эпидемиология, дети

Салимова Т.Ю. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 14–22. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-14-22

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 07.11.2024
Accepted 29.11.2024

Epidemiology of acquired aplastic anemia in children in the Russian Federation

T.Yu. Salimova, O.V. Goronkova, A.V. Protsvetkina, A.A. Maschan, G.A. Novichkova

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

Although acquired aplastic anemia (AA) remains a rare disease worldwide, the incidence of acquired AA in different countries varies widely. This article presents the results of an epidemiological study of acquired AA in children in the Russian Federation. 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 this study, we analyzed the epidemiological data of patients aged 0 to 18 years with acquired AA who had been diagnosed remotely at the laboratories of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology from September 1, 2017 to December 31, 2023 as part of the first registry study conducted in Russian Federation. Our analysis included data from 582 patients from 77 regions of the Russian Federation; the coverage of the pediatric population was 97%. The average incidence rate for the 6-year period was 3.1 cases per 1 million children per year. The median age was 10.2 years (range 1–17.9 years). Most cases of acquired AA occurred between the ages of 5 and 9 years and between 10 and 14 years. There were no cases of acquired AA in children under the age of 1 year. There were more males than females: 317 (54.5%) versus 265 (45.5%). According to etiology, 87% of the patients were diagnosed with idiopathic AA, and 13% had hepatitis-associated AA. In total, 45.7% of the patients fulfilled the criteria for very severe AA, 38.8% for severe AA, and 15.5% for non-severe AA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone was detected in 42.3% of the patients with acquired AA. The incidence rate of acquired AA in children in Russian Federation is intermediate between the European and Asian incidence rates. Our main demographic data and disease characteristics are consistent with the world data.

Key words: acquired aplastic anemia, epidemiology, children

Salimova T.Yu., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 14–22.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-14-22

Приобретенная апластическая анемия (ПАА) у детей является редким жизнеугрожающим заболеванием крови [1]. По данным крупных эпидемиологических исследований, частота ПАА в Европейских странах и в Северной Америке составляет 2 случая на 1 млн детского населения в год. В странах Азии этот показатель в 2–3 раза выше [1, 2].

В основе патогенеза заболевания лежат механизмы, приводящие к иммуноопосредованной деструкции гемопоэтических стволовых клеток цитотоксическими Т-лимфоцитами, влекущие за собой развитие панцитопении вследствие снижения клеточности костного мозга с замещением его жировой тканью [3, 4].

Этиология ПАА чаще всего остается неизвестной, и около 80% всех случаев заболевания являются идиопатическими. На долю гепатит-ассоциированной ПАА, при которой развитию тяжелой панцитопении предшествует эпизод острого гепатита, серонегативного в отношении вирусов гепатита А, В, С, D, E, G, приходится от 5 до 10% случаев [5].

По степени тяжести выделяют нетяжелую, тяжелую и сверхтяжелую формы заболевания согласно критериям Camitta [6]. На долю тяжелой и сверхтяжелой форм приходится большинство всех впервые выявленных случаев ПАА [2, 7].

Практически во всех современных исследованиях ПАА соотношение пациентов по полу близко к 1:1 [8]. Возрастных пиков заболеваемости не наблюдается. Медиана возраста в детской популяции составляет 9–10 лет [7, 9].

У 40–50% пациентов с впервые диагностированной ПАА выявляется клон пароксизмальной ночной гемоглобинурии (ПНГ) [4, 10].

В данной статье мы представляем результаты анализа эпидемиологических данных у детей с направляющим диагнозом ПАА, проходивших дистанционное обследование в рамках регистрового исследования ПАА, проводимого на базе ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

Цель исследования – изучить демографические данные, характеристики заболевания и показатель заболеваемости ПАА у детей в Российской Федерации (РФ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами проведен ретроспективный анализ медицинской документации (первичных учетных форм, выписных эпикризов с места жительства) и базы данных Научного регистра детей с впервые выявленной ПАА, образцы крови и костного мозга которых были направлены в лаборатории ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Центр) для первичной диагностики в период с 1 сентября 2017 г. по 31 декабря 2023 г. в рамках программы «Научный регистр ПАА у детей в РФ» при поддержке фонда «Наука детям». Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

Основные изучаемые демографические данные и характеристики заболевания пациентов: пол, возраст на момент диагностики ПАА, этническая принадлежность, регион проживания, этиологическая форма заболевания, степень тяжести ПАА, наличие клона ПНГ.

В рамках программы «Научный регистр ПАА у детей в РФ» биоматериал пациентов поступал в Центр вместе с заполненной регистрационной

формой, информированным согласием на участие в исследовании и выписным эпикризом с результатами проведенных анализов. В клиниках по месту жительства и в лабораториях Центра для диагностики ПАА пациентам были выполнены следующие исследования: общий анализ крови с подсчетом лейкоцитарной формулы и количества ретикулоцитов в мазке периферической крови; биохимический анализ крови, включающий функциональные тесты печени; исследование крови методом полимеразной цепной реакции на вирусные гепатиты В и С; тест с дизпоксипутаном и исследование длины теломера в целях исключения врожденных форм костномозговой недостаточности; определение клона ПНГ методом проточной цитометрии среди эритроцитов, гранулоцитов и моноцитов; морфологическое и иммунофенотипическое исследование костного мозга для исключения злокачественных заболеваний крови; стандартное цитогенетическое исследование костного мозга и определение методом флуоресцентной гибридизации *in situ* моносомии/делеции 7-й хромосомы как наиболее частой и значимой аномалии у детей; трепанобиопсия для определения клеточности костного мозга и оценки миелофиброза. Методы исследования по данной программе для подтверждения диагноза ПАА и алгоритм дифференциальной диагностики описаны ранее [11, 12].

После проведения необходимого объема обследования диагноз ПАА устанавливали на основании общепринятых критериев [1]. Тяжесть ПАА определялась в соответствии с критериями, описанными В. Camitta в 1976 г. [6]. В зависимости от степени снижения показателей периферической крови и клеточности костного мозга выделяли сверхтяжелую, тяжелую и нетяжелую формы ПАА. Критериями диагноза тяжелой формы ПАА являлись клеточность костного мозга менее 25% по данным трепанобиопсии, уровень нейтрофилов менее 500 клеток/мкл, тромбоциты менее 20 тыс/мкл, ретикулоциты менее 1% (менее 40 тыс/мкл). Для сверхтяжелой формы ПАА характерны те же показатели, что и для тяжелой, но с числом нейтрофилов менее 200 клеток/мкл. Остальные случаи классифицировались как нетяжелая форма заболевания [1].

Для определения клона ПНГ среди эритроцитов, гранулоцитов и моноцитов использовался гармонизированный метод проточной цитометрии, основанный на рекомендациях ICCS/ESCCA по оценке ПНГ. В соответствии с этими рекомендациями нижний предел клона ПНГ определялся как наличие минимум 20 клеток с дефицитом GPI-связанных белков. Клон ПНГ среди гранулоцитов более 1% трактовался как большой, менее 1% – минорный [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

За период с 01.09.2017 по 31.12.2023 среди детей в возрасте от 0 до 18 лет, граждан РФ, зарегистрировано 582 впервые выявленных случая ПАА. Охват детского населения составил 97% (зарегистрированы пациенты из 77 субъектов страны из 85 существующих на момент начала исследования). Появившиеся в последние годы на карте РФ новые регионы в расчет общей заболеваемости в нашем исследовании не попали.

На *рисунке 1* представлена карта РФ, отображающая охват регионов проживания пациентов, зарегистрированных в исследовании, а также заболеваемость в каждом конкретном субъекте страны не в абсолютных значениях, а из расчета количества случаев ПАА на 1 млн детского населения. Однако в нашей стране во многих регионах численность детей далека от миллионных значений, что объясняет высокие цифры заболеваемости в таких субъектах, как, например, Магаданская область (11,6), где за все время наблюдения было выявлено всего 2 случая заболевания ПАА менее чем на 30 тыс детского населения. В регионах, где числен-

ность детской популяции приближается к 1 млн (например, Республика Башкортостан или Краснодарский край), цифры заболеваемости находятся в пределах средних значений: 4,41 и 3,61 соответственно.

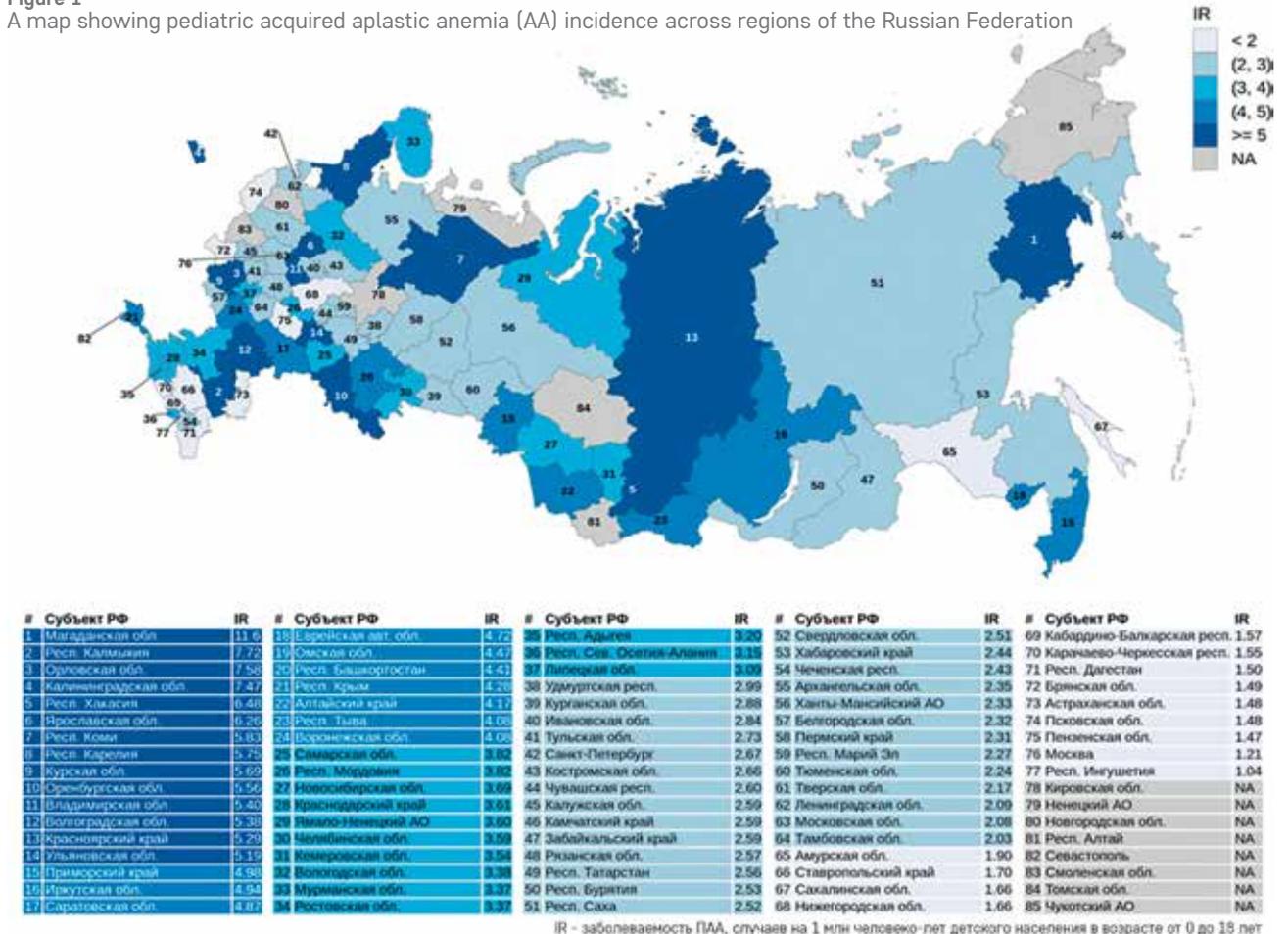
Показатели заболеваемости по годам представлены на *рисунке 2*. За период с 01.01.2018 по 31.12.2023 средний показатель заболеваемости составил 3,1 случая на 1 млн детского населения в год. В период с 2018 по 2020 г. наблюдалось увеличение количества впервые диагностированных случаев ПАА, что было обусловлено улучшением качества диагностики и присоединением к программе «Научный регистр ПАА у детей в РФ» ранее не участвующих регионов. Пик заболеваемости пришелся на 2022 г., когда показатель вышел на рекордный уровень 3,4 случая на 1 млн детского населения за весь изучаемый период. В среднем в год в РФ среди детского населения выявляется около 92 (77–104) пациентов с данной нозологией (*таблица 1*).

Лидирующими регионами по абсолютному числу диагностированных случаев ПАА за исследуемый период времени стали Краснодарский край, Республика Башкортостан, Красноярский край и Москов-

Рисунок 1
Карта заболеваемости детей ПАА по регионам РФ

Figure 1

A map showing pediatric acquired aplastic anemia (AA) incidence across regions of the Russian Federation



ская область, где зарегистрировано 20 первичных пациентов и более (таблица 2).

В таблице 3 представлены регионы, в которых ввиду редкости заболевания пациенты с данным диагнозом встречались только 1 раз в 2–3 года. В Еврейской автономной области, Камчатском крае, Карачаево-Черкесской Республике, Псковской области, Республике Ингушетия и в Сахалинской области ПАА была диагностирована лишь однократно за исследуемый период в 6 лет.

Национальный состав РФ отличается своим разнообразием. Распределение пациентов по национальному составу отображено в таблице 4. Большинство детей, включенных в исследование, были русскими (81,4%).

В таблице 5 представлены основные демографические данные и характеристики заболевания пациентов.

Из 582 зарегистрированных случаев заболевания идиопатическая ПАА выявлена в 508 (87%), гепатит-ассоциированная – в 74 (13%). При анализе пациентов по полу мальчиков было больше, чем девочек: 317 (54,4%) и 265 (45,5%) соответственно.

Рисунок 2

Средняя заболеваемость ПАА у детей за период 2018–2023 гг. на 1 млн населения в возрасте от 0 до 18 лет

Figure 2

The average incidence of acquired AA for the period 2018–2023 per 1 million children aged 0 to 18 years

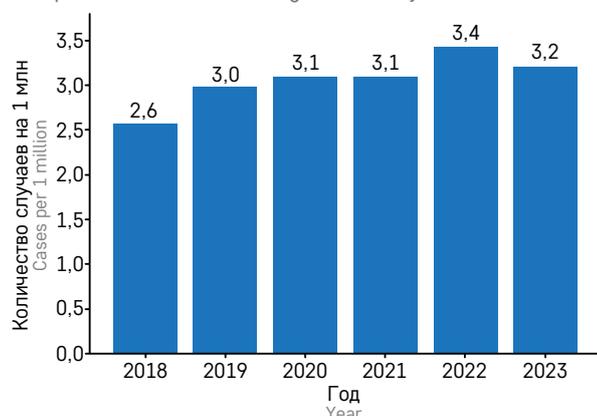


Таблица 1

Заболеваемость ПАА среди детей по годам

Table 1

Acquired AA incidence among children by year

Год Year	Число детей с диагнозом ПАА Number of children diagnosed with acquired AA	Численность детского населения на 1 января, млн Child population as of January 1, million	Заболеваемость ПАА (число случаев/1 млн населения) Incidence of acquired AA (number of cases/1 million people)
2018	77	29,98	2,57
2019	90	30,22	2,98
2020	94	30,37	3,10
2021	94	30,38	3,09
2022	104	30,32	3,43
2023	97	30,17	3,21

Данный показатель обусловлен статически значимым превалярованием пациентов мужского пола в когорте гепатит-ассоциированной ПАА, в которой число заболевших мальчиков в популяции в 2,7 раза превышало число девочек. В группе идиопатической ПАА соотношение по полу составляло: мальчики:девочки – 1,1:1 (рисунок 3).

Все пациенты были разделены на 4 возрастные группы: 0–4 года, 5–9, 10–14 и 15–17 лет. Самому младшему ребенку на момент постановки диагноза исполнился 1 год, самому старшему было 17,9 года.

Таблица 2

Количество зарегистрированных случаев ПАА по регионам РФ за период 2018–2023 гг.

Table 2

The number of registered cases of acquired AA by regions of the Russian Federation for the period from 2018 to 2023

Регион Region	Число пациентов Number of patients
Краснодарский край The Krasnodar Krai	26
Республика Башкортостан The Republic of Bashkortostan	24
Красноярский край, Московская область The Krasnoyarsk Krai, the Moscow Region	20
Иркутская область The Irkutsk Region	17
Москва, Ростовская область, Челябинская область Moscow, The Rostov Region, The Chelyabinsk Region	16
Волгоградская область, Санкт-Петербург The Volgograd Region, Saint Petersburg	15
Оренбургская область, Самарская область, Свердловская область The Orenburg Region, the Samara Region, the Sverdlovsk Region	14
Новосибирская область, Республика Татарстан, Саратовская область The Novosibirsk Region, the Republic of Tatarstan, the Saratov Region	13
Алтайский край, Кемеровская область The Altai Krai, the Kemerovo Region	12
Омская область, Приморский край The Omsk Region, the Primorsky Krai	11
Воронежская область, Республика Крым The Voronezh Region, the Republic of Crimea	10
Калининградская область, Ярославская область The Kaliningrad Region, the Yaroslavl Region	9
Владимирская область, Пермский край, Республика Дагестан, Чеченская Республика The Vladimir Region, The Perm Region, the Republic of Dagestan, the Chechen Republic	8
Курская область, Ульяновская область The Kursk Region, the Ulyanovsk Region	7
Нижегородская область, Орловская область, Республика Коми, Ставропольский край, Удмуртская Республика, Ханты-Мансийский автономный округ The Nizhny Novgorod Region, the Orel Region, the Komi Republic, the Stavropol Krai, the Udmurt Republic, the Khanty-Mansi Autonomous Area	6
Вологодская область, Луганская Народная Республика, Республика Хакасия, Тюменская область The Vologda Region, the Lugansk People's Republic, the Republic of Khakassia, the Tumen Region	5
Белгородская область, Забайкальский край, Ленинградская область, Липецкая область, Республика Бурятия, Республика Карелия, Республика Саха, Тульская область, Хабаровский край, Чувашская Республика The Belgorod Region, the Zabaikatsky Krai, the Leningrad Region, the Lipetsk Region, the Republic of Buryatia, the Republic of Karelia, the Republic of Sakha, the Tula Region, the Khabarovsk Krai, the Chuvash Republic	4

Таблица 3
Регионы РФ с редкой встречаемостью ПАА по годам

Table 3
Regions of the Russian Federation with low incidence of acquired AA by year

Регион Region	Год Year					
	2018	2019	2020	2021	2022	2023
Амурская область The Amur Region	0	0	1	0	1	0
Архангельская область The Arkhangelsk Region	0	0	1	2	0	0
Астраханская область The Astrakhan Region	0	0	0	0	1	1
Брянская область The Bryansk Region	0	0	0	1	0	1
Донецкая Народная Республика The Donetsk People's Republic	1	0	0	0	1	0
Еврейская автономная область The Jewish Autonomous Region	0	0	1	0	0	0
Ивановская область The Ivanovo Region	1	1	1	0	0	0
Кабардино-Балкарская Республика The Kabardino-Balkarian Republic	0	1	1	0	0	0
Калужская область The Kaluga Region	0	0	0	0	2	1
Камчатский край The Kamchatka Krai	1	0	0	0	0	0
Карачаево-Черкесская Республика The Karachayevo-Circassian Republic	0	0	0	1	0	0
Костромская область The Kostroma Region	0	1	0	1	0	0
Курганская область The Kurgan Region	2	1	0	0	0	0
Магаданская область The Magadan Region	0	0	0	0	1	1
Мурманская область The Murmansk Region	0	0	0	1	0	2
Пензенская область The Penza Region	0	0	1	0	1	0
Псковская область The Pskov Region	0	1	0	0	0	0
Республика Адыгея The Republic of Adygea	0	0	2	0	0	0
Республика Ингушетия The Republic of Ingushetia	0	0	0	1	0	0
Республика Калмыкия The Republic of Kalmykia	0	1	1	0	1	0
Республика Марий Эл The Republic of Mari El	1	0	0	0	0	1
Республика Мордовия The Republic of Mordovia	0	0	1	2	0	0
Республика Северная Осетия-Алания The Republic of North Ossetia-Alania	0	1	1	0	1	0
Республика Тыва The Republic of Tuva	1	1	0	0	1	0
Рязанская область The Ryazan Region	1	0	0	0	1	1
Сахалинская область The Sakhalin Region	0	0	0	1	0	0
Тамбовская область The Tambov Region	0	0	0	1	1	0
Тверская область The Tver Region	0	0	1	0	0	2
Ямало-Ненецкий автономный округ The Yamalo-Nenetsky Autonomous Region	0	0	0	2	0	1

Медиана возраста составила 10,2 года. Наибольшее количество случаев ПАА выявлено в 2 возрастных группах: 5–9 лет – 196 (33,7%) и 10–14 лет – 168 (28,9%) пациентов; наименьшее – в группе 0–4 года – 88 (15,1%) пациентов. На средний подростковый возраст 15–17 лет пришлось 130 (22,3%) всех заболевших. В возрасте до 1 года не было выявлено ни одного случая ПАА. В возрастной группе 5–9 лет заболеваемость у девочек была выше, чем у мальчиков, а во всех остальных возрастных группах преобладали пациенты мужского пола (рисунки 4). Распределение детей по возрастным группам в когорте пациентов с идиопатической ПАА соответствует общей группе. В когорте гепатит-ассоциированной ПАА наибольшее число заболевших было в возрастной группе 5–9 лет – 32 (43,3%), наименьшее – в группе 15–17 лет – 6 (8,1%). Медиана возраста для группы пациентов с идиопатической ПАА составила 10,6 года, с гепатит-ассоциированной – 8,6 года.

При распределении пациентов по степени тяжести ПАА преобладала сверхтяжелая форма заболевания – 266 (45,7%) детей. Критерии тяжелой формы выполняли 226 (38,8%) пациентов. Группу нетяжелой формы заболевания составили 90 (15,5%) детей. Анализируя заболеваемость внутри когорты

Таблица 4
Распределение пациентов по национальному составу

Table 4
The distribution of patients by nationality

Национальность Nationality	Число пациентов каждой национальности, n (%) Number of patients per nationality, n (%)
Русские The Russians	474 (81,4)
Татары The Tatars	20 (3,4)
Дагестанцы The Dagestanians	9 (1,5)
Таджики, чеченцы The Tadzhiks, the Chechens	8 (2,7)
Армяне The Armenians	7 (1,2)
Башкиры, буряты The Bashkirs, the Buryats	6 (2,1)
Украинцы The Ukrainians	5 (0,9)
Казахи, якуты The Kazakhs, the Yakuts	4 (1,4)
Осетины, узбеки The Ossetians, the Uzbeks	3 (1)
Кабардинцы, киргизы, нагайцы, тувинцы, удмурты The Kabardians, the Kirgiz, the Nogai, the Tuvinians, the Udmurts	2 (1,7)
Азербайджанцы, даргинцы, евреи, коми, мордвинцы, цыгане, черкесы, чувашцы The Azerbaijanians, the Dargins, the Jewish, the Komis, the Mordvinians, the Gypsy, the Circassians, the Chuvashians	1 (1,4)
Другая национальность* Other nationality*	7 (1,2)

Примечание. * – другая неуточненная национальность/нет данных.
Note. * – other unspecified nationality/no data

пациентов с гепатит-ассоциированной ПАА, наблюдается такая же закономерность, как и в общей группе: сверхтяжелая – 43 (58,1%), тяжелая – 25 (33,8%), нетяжелая – 6 (8,1%) пациентов. При идиопатиче-

ской ПАА различия в числе пациентов со сверхтяжелой и тяжелой формами минимальные – 43,9% и 39,6% соответственно. Во всех возрастных группах число детей с нетяжелой формой заболевания было

Таблица 5
Демографические данные пациентов и характеристики заболевания

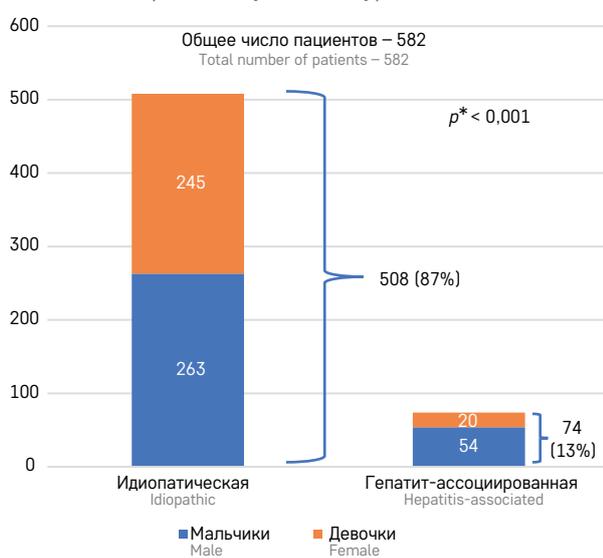
Table 5
Patient demographics and disease characteristics

Анализируемые показатели Analyzed variables	Гепатит-ассоциированная ПАА (n = 74) Hepatitis-associated acquired AA (n = 74)	Идиопатическая ПАА (n = 508) Idiopathic AA (n = 508)	Всего (n = 582) Total (n = 582)
Пол, n (%): Sex, n (%):			
мужской male	54 (73)	263 (52)	317 (54,5)
женский female	20 (27)	245 (48)	265 (45,5)
Медиана возраста, годы Median age, years	8,6 (1,0–17,8)	10,6 (1,0–17,9)	10,2 (1,0–17,9)
Возрастная группа, n (%): Age group, years, n (%):			
0–4 года 0–4 years	16 (21,6)	72 (14,2)	88 (15,1)
5–9 лет 5–9 years	32 (43,3)	164 (32,3)	196 (33,7)
10–14 лет 10–14 years	20 (27)	148 (29,1)	168 (28,9)
15–17 лет 15–17 years	6 (8,1)	124 (24,4)	130 (22,3)
Степень тяжести, n (%): Degree of severity, n (%):			
сверхтяжелая very severe	43 (58,1)	223 (43,9)	266 (45,7)
тяжелая severe	25 (33,8)	201 (39,6)	226 (38,8)
нетяжелая non-severe	6 (8,1)	84 (16,5)	90 (15,5)
ПНГ, n (%): PNH, n (%):			
ПНГ– PNH–	55 (76,4)	273 (54,9)	328 (57,7)
ПНГ+ (нейтрофилы с дефицитом GPI) PNH+ (GPI-deficient neutrophils)	17 (23,6)	224 (45,1)	241 (42,3)
ПНГ < 1% (минорный клон) PNH < 1% (minor clone)	15 (20,8)	136 (27,4)	151 (26,5)
ПНГ > 1% (большой клон) PNH > 1% (major clone)	2 (2,8)	88 (17,7)	90 (15,8)
нет данных no data	2	11	13

Примечание. GPI – гликозилфосфатидилинозитол.
Note. PNH – paroxysmal nocturnal hemoglobinuria; GPI – glycosylphosphatidylinositol.

Рисунок 3
Распределение пациентов по полу и форме заболевания

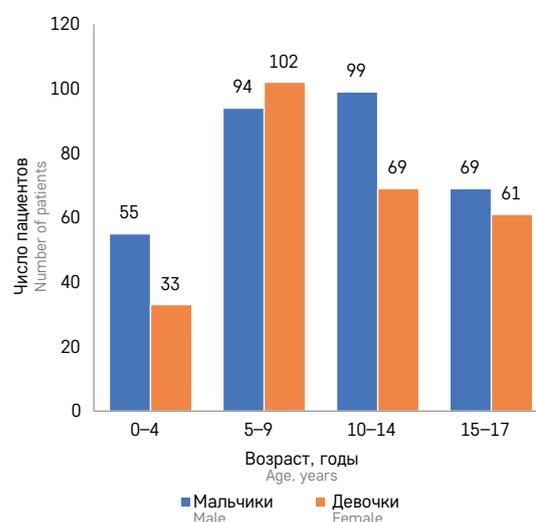
Figure 3
The distribution of patients by sex and type of disease



* – критерий хи-квадрат Пирсона
* – Pearson's chi-squared test

Рисунок 4
Заболеваемость ПАА в зависимости от пола и возраста

Figure 4
The incidence of acquired AA by sex and age



наименьшим. В возрастных группах 0–4 года, 5–9 и 10–14 лет чаще встречалась сверхтяжелая форма. В среднем подростковом возрасте (15–17 лет) число пациентов с тяжелой формой преобладало над остальными формами ПАА (рисунки 5).

Из 582 человек, включенных в исследование, определение клона ПНГ методом проточной цитометрии среди эритроцитов, гранулоцитов и моноцитов проведено 569 пациентам. Клон ПНГ выявлен у 241 ребенка, что составило 42,3%. Из них минорный клон детектирован в 151 (26,5%) случае, большой – в 90 (15,8%). У 57,7% заболевших ПАА клон ПНГ не обнаружен (рисунки 6). Наличие клона ПНГ выявлено как при идиопатической, так и при гепатит-ассоциированной ПАА (таблица 5). При идиопатической ПАА клон ПНГ обнаружен у 224 (45,1%) из 497 пациентов, из них у 136 – минорный и у 88 – большой. При гепатит-ассоциированной ПАА клон ПНГ определен у 17 (23,6%) из 72 пациентов, из них у 15 – минорный и у 2 – большой; медиана клона среди эритроцитов составила 0,048% (разброс 0–0,28%), среди гранулоцитов – 1,0% (разброс 0–9,2%) и среди моноцитов – 2,25% (разброс 0,01–16,6%).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

ПАА во всем мире остается редким заболеванием. Большинство эпидемиологических исследований, посвященных данной нозологии, включает взрослое и детское население. Работ, в которых изучена заболеваемость только среди детей, крайне мало [7, 9, 14]. Проведенное нами исследование позволило охватить 97% детской популяции РФ и представить актуальную на сегодняшний день заболеваемость в нашей стране.

Частота встречаемости ПАА в разных регионах мира отличается своей вариабельностью. Hartung и соавт. [1] в своей статье приводят цифры забо-

леваемости 2 случая на 1 млн детского населения в год в Европе и Северной Америке. Еще в одном крупном Европейском исследовании, проведенном в Барселоне [2], частота заболевания среди взрослой и детской популяции составила 2,34 случая на 1 млн населения, при этом в отдельных возрастных группах пациентов 2–14 лет и 15–24 года – 1,68 и 2,16 случая на 1 млн населения соответственно. С другой стороны, в странах Восточной, Юго-Восточной и Южной Азии заболеваемость ПАА в 2–3 раза выше [2, 4, 8]. Так, по данным крупного эпидемиологического исследования в Корее, у детей в возрасте до 15 лет заболеваемость ПАА составила 5,6 случая на 1 млн населения [7]. Среди детского населения Японии выявлена заболеваемость 4,79 случая на 1 млн населения [14]. В Таиланде [15] и Пакистане [16], где в анализ были включены как дети, так и взрослые, показатель составил от 3,9 до 5 случаев (в зависимости от региона страны) и 3,5 случаев на 1 млн населения соответственно. По данным нашего эпидемиологического исследования с полученным показателем заболеваемости 3,1 случая на 1 млн детского населения, РФ занимает срединное место между Европейскими и Азиатскими государствами, что, вероятно, обусловлено географическим положением страны (в Восточной Европе и Северной Азии) и ее многонациональным составом. Однако показатель заболеваемости в РФ все же несколько ближе к Западному, вероятно, за счет превалирования в исследовании пациентов русской национальности.

Изучение этнической принадлежности заболевших может быть важно при необходимости применения препаратов, фармакокинетика которых различается у пациентов азиатского и неазиатского происхождения, например, агониста тромбозитических рецепторов элтромбопага, применяемого в современных схемах лечения ПАА. По результатам крупного исследования было выявлено, что у педи-

Рисунок 5
Распределение пациентов с ПАА по степени тяжести в разных возрастных группах

Figure 5
The distribution of patients with acquired AA by severity in different age groups

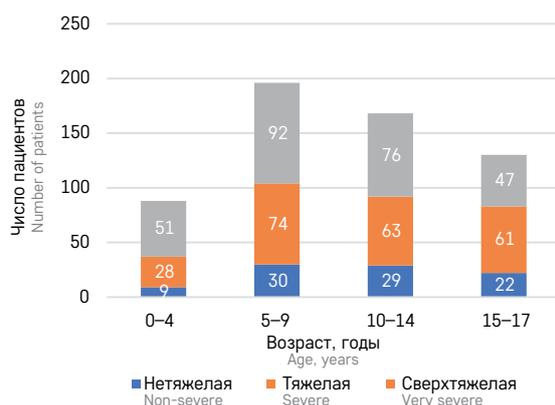
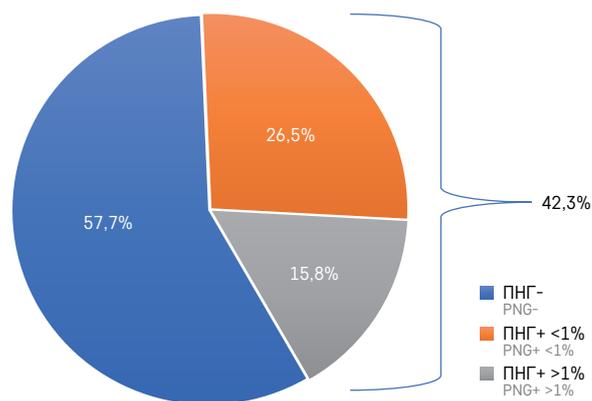


Рисунок 6
Распределение пациентов с ПАА в зависимости от клона ПНГ

Figure 6
The distribution of patients with acquired AA by PNH clone



атрических пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой азиатского происхождения фармакокинетические показатели элтромбопага отличаются от таковых у пациентов неазиатского происхождения [17].

Как и во всем мире [2–4], в нашей стране преобладает идиопатическая ПАА (87%). Тогда как по числу случаев гепатит-ассоциированной ПАА (13%) мы приближаемся к странам Восточной Азии, где этот показатель варьирует от 5 до 15% [12, 18, 19]. Так, по результатам крупного японского исследования [19], гепатит-ассоциированная ПАА среди детского населения выявлена у 14% заболевших. Между тем, в западных странах данный вариант встречается только у 2–5% пациентов [18, 20]. В нашем исследовании мальчиков с гепатит-ассоциированной формой заболевания зарегистрировано в 2,7 раза больше, чем девочек, что является отличительной особенностью этого вида ПАА и сопоставимо с мировыми показателями [7, 19, 21–23]. Среди пациентов с идиопатической ПАА различий по полу не выявлено.

По результатам нашего анализа заболевание у детей встречается во всех возрастных группах, при этом с наибольшей частотой у пациентов 5–9 лет. Медиана возраста составила 10,2 года, что не противоречит данным литературы [7, 9]. Обращает на себя внимание, что в возрасте до 1 года не было зарегистрировано ни одного случая ПАА, вероятнее всего, в связи с тем, что в данной когорте пациентов при наличии трехростковой цитопении в круг дифференциальной диагностики в первую очередь включают врожденные синдромы костномозговой недостаточности, врожденные дефекты иммунитета и митохондриальные заболевания [11, 12].

Согласно литературным источникам, большинство заболевших выполняют критерии, характерные для сверхтяжелой и тяжелой форм ПАА, с некоторым преобладанием последней [2, 7, 16]. В нашем исследовании наибольший процент случаев

пришелся на сверхтяжелую форму заболевания, за исключением когорты пациентов среднего подросткового возраста, где тяжелая форма оказалась наиболее многочисленной.

Сочетание ПАА с клоном ПНГ у детей выявлено в 42,3% случаев, что не отличается от результатов крупных исследований, посвященных этой тематике [4, 10]. Интерес представляет и требует дополнительного отдельного изучения группа гепатит-ассоциированной ПАА, при которой клон ПНГ выявлен у 23,6% пациентов, что выше в сравнении с имеющимися литературными данными. В одном из последних исследований, представленных коллективом авторов из Китая, приведена цифра 8,9% [24]. Такое значимое отличие, возможно, объясняется разной чувствительностью методов, которые применялись для выявления клона ПНГ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В нашей стране впервые проведено крупное регистровое исследование, позволившее изучить эпидемиологию ПАА среди детского населения. По показателю заболеваемости РФ занимает срединное место между странами Европы и Азии. Основные эпидемиологические характеристики сопоставимы с данными мировой литературы.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено при поддержке фонда «Наука – детям».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

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

Goronkova O.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8571-5395>

Protcvetkina A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8562-8945>

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

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

Литература / References

1. Hartung H.D., Olson T.S., Bessler M. Acquired aplastic anemia in children. *Pediatr Clin North Am* 2013; 60 (6): 1311–36.
2. Montane E., Ibanez L., Vidal X., Ballarín E., Puig R., García N., et al. Epidemiology of aplastic anemia: a prospective multicenter study. *Haematologica* 2008; 93: 518–23.
3. Young N.S. Aplastic Anemia. *N Engl J Med* 2018; 379 (17): 1643–56.
4. Young N.S., Scheinberg P., Calado R.T. Aplastic Anemia. *Curr Opin Hematol* 2008; 15 (3): 162–8.
5. Gonzalez-Casas R., Garcia-Buey L., Jones E.A., Gisbert J.P., Moreno-Otero R. Systematic review: hepatitis-associated aplastic anaemia – a syndrome associated with abnormal immunological function. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 30 (5): 436–43.
6. Camitta B.M., Rapoport J.M., Parkman R., Nathan D.G. Selection of patients for bone marrow transplantation in severe aplastic anemia. *Blood* 1975; 45: 355–63.
7. Jeong Dae Chul, Chung Nack Gyun, Kang Hyoung Jin, Koo Hong Hoe, Kook Hoon, Kim Soon Ki, et al. Epidemiology and clinical long-term outcome of childhood aplastic anemia

- in Korea for 15 years: retrospective study of the Korean Society of Pediatric Hematology Oncology (KSPHO). *Pediatr Hematol Oncol* 2011; 33 (3): 172–8.
8. Young N.S., Kaufman D.W. The epidemiology of acquired aplastic anemia. *Haematologica* 2008; 93 (4): 489–92.
 9. Кугейко Т.Б., Быданов О.И. Приобретенная апластическая анемия у детей в Республике Беларусь: эпидемиология и этиология. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2018; 17 (1): 29–36. DOI: 10.24287/1726-1708-2018-17-1-29-36 [Kugeiko T.V., Budanov O.I. Acquired aplastic anemia in children in Republic of Belarus: epidemiology and etiology. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2018; 17 (1): 29–36. (In Russ.)].
 10. Kulagin A., Lisukov I., Ivanova M., Golubovskaya I., Kruchkova I., Bondarenko S., et al. Prognostic value of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria clone presence in aplastic anaemia patients treated with combined immunosuppression: results of two-centre prospective study. *Br J Haematol* 2014; 164 (4): 546–54.
 11. Горонкова О.В., Тузова Е.А., Салимова Т.Ю., Фоминых В.С., Шутова А.Д., Мехиева Э.Х. и соавт. Дифференциальная диагностика приобретенной апластической анемии у детей: анализ данных регистрационного исследования. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского* 2024; 103 (3): 8–20. DOI: 10.24110/0031-403X-2024-103-3-8-20 [Goronkova O.V., Tuzova E.A., Salimova T.Yu., Fominykh V.S., Shutova A.D., Mekhieva E.Kh., et al. Differential diagnosis of acquired aplastic anemia in children: analysis of data gathered from the earlier Register Study. *Pediatrics. Journal n.a. G.N. Speransky* 2024; 103 (3): 8–20. (In Russ.)].
 12. Горонкова О.В., Павлова А.В., Райкина Е.В. Апластическая анемия у детей: современная концепция дифференциальной диагностики. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2024; 23 (2): 208–20. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-2-208-220 [Goronkova O.V., Pavlova A.V., Raykina E.V. Aplastic anemia in children: the current concept of differential diagnosis. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2024; 23 (2): 208–20. (In Russ.)].
 13. Sipol A.A., Babenko E.V., Borisov V.I., Naumova E.V., Boyakova E.V., Yakunin D.I., et al. An inter-laboratory comparison of PNH clone detection by high-sensitivity flow cytometry in a Russian cohort. *Hematology* 2015; 20 (1): 31–8.
 14. Kojima S. Why is the incidence of aplastic anemia higher in Asia? *Expert Rev Hematol* 2017; 10 (4): 277–9.
 15. Issaragrisil S., Kaufman D.W., Anderson T., Chansung K., Leaverton P.E., Shapiro S., et al. The epidemiology of aplastic anemia in Thailand. *Blood* 2006; 107 (4): 1299–307.
 16. Ahmed P., Chaudhry Q.U.N., Satti T.M., Mahmood S.K., Ghafoor T., Shahbaz N., et al. Epidemiology of aplastic anemia: a study of 1324 cases. *Hematology* 2020; 25 (1): 48–54.
 17. Wire M.B., Li X., Zhang J., Sallas W., Aslanis V., Ouatat T. Modeling and simulation support eltrombopag dosing in pediatric patients with immune thrombocytopenia. *Clin Pharmacol Ther* 2018; 104: 1199–207.
 18. Rauff B., Idrees M., Shah S.A., Butt S., Butt A.M., Ali L., et al. Hepatitis associated aplastic anemia: a review. *Virology* 2011; 8: 87.
 19. Osugi Y., Yagasaki H., Sako M., Kosaka Y., Taga T., Ito T., et al. Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. Antithymocyte globulin and cyclosporine for treatment of 44 children with hepatitis associated aplastic anemia. *Haematologica* 2007; 92 (12): 1687–90.
 20. Locasciulli A., Bacigalupo A., Bruno B., Montante B., Marsh J., Tichelli A., et al. Hepatitis associated aplastic anemia: Epidemiology and treatment results obtained in Europe. A report of the EBMT aplastic anaemia working party. *Br J Haematol* 2010; 149: 890–5.
 21. Fu L., Zhang J., Wang R., Yang B., Li H., Chen H., et al. Clinical characteristics of hepatitis-associated aplastic anemia in children. *Ann Hematol* 2024; 103 (2): 397–404.
 22. Altay D., Yılmaz E., Özcan A., Karakükçü M., Ünal E., Arslan D. Hepatitis-associated aplastic anemia in pediatric patients: single center experience. *Transfus Apher Sci* 2020; 59: 102900.
 23. Bharadwaj R., Menon J., Kumar V., Shanmugam N., Munirathnam D. Clinical Profile of Hepatitis Associated Aplastic Anemia (HAAA) in Six Children. *Indian Pediatr* 2023; 60 (5): 410–1.
 24. Yang W., Zhao X., Peng G., Zhang L., Jing L., Zhou K., et al. Time and residual hematopoiesis are crucial for PNH clones escape in hepatitis-associated aplastic anemia. *Ann Hematol* 2021; 100 (10): 2435–41.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-23-33

Транзиторный аномальный миелопоэз, миелодиспластический синдром и острый миелоидный лейкоз у детей с синдромом Дауна

З.А. Абашидзе, И.И. Калинина, Л.А. Хачатрян, М.С. Васильева, М.В. Гаськова, Е.А. Зеркаленкова, А.Н. Казакова, Ю.В. Ольшанская, Е.В. Михайлова, А.М. Попов, К.А. Воронин, А.А. Масчан, Г.А. Новичкова

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

Миелоидные неоплазии, ассоциированные с синдромом Дауна (СД), представлены транзиторным аномальным миелопоэзом, острым миелоидным лейкозом (ОМЛ), миелодиспластическим синдромом. Транзиторный аномальный миелопоэз – это транзиторный клональный миелопротрофирующий синдром, характеризующийся повышенным количеством бластных клеток в периферической крови, наиболее часто морфологически и иммунофенотипически относящихся к мегакариобластам, а также выявлением приобретенной мутации в гене *GATA1*. Данный синдром встречается в периоде новорожденности и до 6 месяцев. Дети с СД имеют аномально высокий риск развития гемобластозов. Частота встречаемости ОМЛ у них в 150–400 раз выше, чем у детей без СД. При проведении химиотерапии сниженной интенсивности показатели выживаемости и прогноз у детей с ОМЛ и СД (ОМЛ-СД) значительно выше, чем у детей с ОМЛ без СД и составляют: общая выживаемость от 84 до 90%, бессобытийная выживаемость до 89%. В то же время стандартная интенсивная химиотерапия (с высокими дозами антрациклинов и интенсивным таймингом индукции) ассоциирована у этих пациентов с высокой токсичностью и значительной смертностью в результате инфекционных осложнений. Результаты лечения пациентов с ОМЛ-СД в России не превышают 66%, что значительно ниже данных международных исследовательских групп. Необходима стандартизация терапии ОМЛ-СД в России, внедрение единого протокола лечения с редукцией доз химиотерапевтических агентов и единых стандартов сопроводительной терапии, профилактики и лечения инфекционных осложнений. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

Ключевые слова: транзиторный аномальный миелопоэз, миелоидный лейкоз, трисомия хромосомы 21, ген *GATA1*, прогноз

Абашидзе З.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 23–33. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-23-33

Transient abnormal myelopoiesis, myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia in children with Down syndrome

Z.A. Abashidze, I.I. Kalinina, L.A. Khachatryan, M.S. Vasilieva, M.V. Gaskova, E.A. Zerkalenskova, A.N. Kazakova, Yu.V. Olshanskaya, E.V. Mikhailova, A.M. Popov, K.A. Voronin, A.A. Maschan, G.A. Novichkova

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

Myeloid neoplasms associated with Down syndrome (DS) are represented by transient abnormal myelopoiesis, acute myeloid leukemia (AML) and myelodysplastic syndrome. Transient abnormal myelopoiesis is a clonal myeloproliferative syndrome characterized by an increased number of blast cells in the peripheral blood, morphologically and immunophenotypically most commonly related to megakaryoblasts, and the presence of an acquired mutation in the *GATA1* gene. This syndrome occurs in infants up to 6 months of age. Children with DS have an abnormally high risk of developing hematological malignancies. The incidence of AML in these patients is 150–400 times higher than in children without DS. Survival rates and prognosis in children with AML and DS (AML-DS) treated with reduced-intensity chemotherapy are significantly higher than in children without DS: the overall survival ranges from 84% to 90% and the event-free survival is up to 89%. At the same time, standard intensive chemotherapy (with high-dose anthracyclines and intensive timing of induction) is associated in these patients with high toxicity and significant mortality due to infectious complications. Treatment outcomes in patients with AML-DS in Russia do not exceed 66%, which is significantly lower than those achieved by international cancer research groups. There is a need for standardization of therapy for AML-DS in Russia and introduction of a uniform treatment protocol with reduced chemotherapy doses and common standards of supportive care as well as prophylaxis and treatment of infectious complications. 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 Russia.

Key words: transient abnormal myelopoiesis, myeloid leukemia, trisomy 21, *GATA1* gene, prognosis

Abashidze Z.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 23–33. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-23-33

Синдром Дауна (СД) – одна из самых распространенных генетических аномалий, характеризующаяся наличием дополнительной копии 21-й хромосомы в кариотипе. Синдром получил свое название в честь английского врача Джона Дауна, впервые описавшего его в 1866 г., и характеризу-

ется особым внешним видом (монголоидный разрез глаз, эпикант, короткий нос, плоская переносица, небольшие ушные раковины, широко расставленные глаза, брахицефалия, плоский затылок, аркообразное небо, зубные аномалии, недоразвитие нижней челюсти, открытый рот, большой высунутый

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 13.11.2024
Принята к печати 25.11.2024



EDN: BWVYXM

Контактная информация:

Абашидзе Залина Ахмедовна, врач-гематолог боксированного отделения гематологии/онкологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: zalina.abashidze@dgoi.ru

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 13.11.2024

Accepted 25.11.2024

Correspondence:

Zalina A. Abashidze, a hematologist of Hematology/Oncology Isolation Unit 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: zalina.abashidze@dgoi.ru

язык; диспропорция туловища и конечностей – короткие конечности и шея с кожной складкой, брахимезофалангия, клинодактилия, четырехпальцевая борозда на кисти – «обезьянья складка»), высокой частотой пороков развития, наиболее частыми из которых являются врожденные пороки сердца, аномалии роста, офтальмологические нарушения, эндокринопатии, а также умственной отсталостью. Частота встречаемости данного синдрома в мире составляет 1 случай на 900 новорожденных. Несмотря на то, что у данной категории детей имеется более высокий риск развития злокачественных опухолей [1, 2], заболеваемость солидными новообразованиями значительно ниже, чем в популяции без СД. В то же время дети с СД имеют аномально высокий риск развития гемобластозов [1]. Частота острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) (в особенности В-клеточного) у них в 30 раз выше, чем у детей без СД, а частота острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) – в 150–400 раз выше. Высокий риск развития лейкозов был подтвержден различными исследовательскими группами, включая регистры датской, финской и английской групп пациентов с СД, а также данными недавнего крупного исследования, проведенного в Северной Америке [2–5].

Показатели общей (ОВ) и бессобытийной (БСВ) выживаемости у пациентов с ОЛЛ и СД не превышают 75% и 61% соответственно [6, 7].

При проведении химиотерапии сниженной интенсивности показатели выживаемости и прогноз у детей с ОМЛ и СД (ОМЛ-СД) значительно выше, чем у детей без СД, и составляют: ОВ от 84 до 90%, БСВ до 89% [5, 8]. В то же время стандартная интенсивная химиотерапия (с высокими дозами антрациклинов и интенсивным таймингом индукции) ассоциирована у этих пациентов с высокой токсичностью и значительной смертностью в результате инфекционных осложнений.

В данной статье представлен литературный обзор данных о детях с СД и миелоидными неоплазиями, а также анализ результатов собственного исследования.

Нозологические формы

Миелоидные неоплазии, ассоциированные с СД, вследствие своих уникальных клинико-биологических признаков занимают отдельное место в классификации Всемирной организации здравоохранения 2022 г. и представлены транзиторным аномальным миелопозозом (ТАМ) и ОМЛ [9]. Также необходимо отметить, что у данной категории пациентов выделяют еще одну нозологию – миелодиспластический синдром (МДС), который характеризуется цитопенией и дисплазией в одной клеточной линии или более и представлен двумя формами: МДС с низким количе-

ством бластных клеток (менее 5% в костном мозге, менее 2% в периферической крови), который, в свою очередь, подразделяется на гипоклеточный и неуточненный варианты, и МДС с избытком бластов (5–19% в костном мозге, 2–19% в периферической крови).

Транзиторный аномальный миелопозоз

Определение

ТАМ (транзиторное миелопролиферативное расстройство, транзиторная лейкемия) – это транзиторный клональный миелопролиферативный синдром, характеризующийся повышенным количеством бластных клеток в периферической крови, наиболее часто морфологически и иммунофенотипически относящихся к мегакариобластам, а также выявлением соматической мутации в гене *GATA1*. Данный синдром встречается в периоде новорожденности и до 6 месяцев. Частота выявления ТАМ у пациентов с СД варьирует от 5 до 30% [1, 10]. В 80% случаев ТАМ спонтанно разрешается в течение нескольких недель или месяцев с момента диагностики. Однако в 20–30% случаев ТАМ может эволюционировать в ОМЛ [1, 10–12].

Клинические проявления

Данный синдром иногда может выявляться внутриутробно и приводить к гибели плода или смерти в периоде новорожденности. Клинические проявления ТАМ могут быть различны: от бессимптомных изменений в гемограмме (определяемых при проведении скринингового анализа крови) до тяжелой диссеминированной лейкемической инфильтрации органов. Клинически выраженный ТАМ развивается у 10–30% пациентов [10–12]. Клинические проявления неспецифичны, наиболее частыми из них являются гепатоспленомегалия, желтуха, сыпь, перикардальный/плевральный выпот, асцит, почечная недостаточность, гематологические нарушения (лейкоцитоз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево, нейтрофилез, тромбоцитопения). У некоторых пациентов отмечаются эозинофилия, базофилия, анемия и коагулопатия [12, 13].

Диагноз устанавливается на основании клинической картины, повышенного количества бластных клеток в крови более 10% и наличия мутации в гене *GATA1*. В то же время у 20% новорожденных можно обнаружить небольшое количество бластных клеток в периферической крови при отсутствии клинических и других гематологических проявлений – это так называемый молчащий ТАМ [12, 13].

В 15–20% случаев ТАМ может иметь тяжелое жизнеугрожающее течение [10–12].

Любой дебют заболевания после 6 месяцев жизни не может трактоваться как ТАМ [1, 10].

Патогенез

В основе патогенеза ТАМ лежит двухступенчатый механизм. Первым событием является трисомия 21-й хромосомы, которая ответственна за экспансию эритромегакариоцитарных клеток-предшественников и мегакариоцитов в печени плода и повышение их пролиферативной активности. В дальнейшем в печени происходит второе событие – бластные клетки с трисомией 21-й хромосомы приобретают мутацию в гене *GATA1*, в результате чего происходит накопление малодифференцированных предшественников мегакариоцитов и развитие клинической картины ТАМ [11, 12, 14].

Ген *GATA1* играет важную роль в дифференцировке мегакариоцитов и активации специфических рецепторов. Мутации в гене *GATA1* обнаруживаются во 2-м, реже в 3-м экзоне и представляют собой транкрирующие варианты с образованием преждевременного стоп-кодона, что приводит к синтезу укороченного белка *GATA1s* [8, 14]. Укороченный белок имеет сниженную активность в отношении дифференцировки мегакариоцитов. Мутации в гене *GATA1* встречаются у 30% новорожденных с СД и практически во всех случаях развития ТАМ и ОМЛ-СД [15, 16].

Терапия

Проведение терапии необходимо в случае тяжелого жизнеугрожающего течения ТАМ. Как правило, применяют низкие дозы цитарабина от 0,5 до 2 мг/кг от 4 до 10 дней. Несвоевременно начатая терапия или ее отсутствие могут приводить в 15% случаев к развитию летальных исходов, главным образом от печеночной и мультиорганной недостаточности [17–20].

Учитывая многообразие форм ТАМ, всем пациентам с СД рекомендован следующий алгоритм обследования [10]:

- проведение общего анализа крови с подсчетом лейкоцитарной формулы в целях выявления повышенного количества бластных клеток;
- проведение тщательного клинического осмотра в целях выявления клинических проявлений ТАМ;
- при обнаружении повышенного количества бластных клеток в периферической крови (> 10%) и/или клинических признаков ТАМ необходимо:
 - определить наличие тяжелых жизнеугрожающих симптомов, к которым относятся лейкоцитоз более $100 \times 10^9/\text{л}$, повышение конъюгированного билирубина более 83 мкмоль/л, выраженная гепатоспленомегалия, водянка плода, наличие плеврального/перикардального выпота, почечная недостаточность, диссеминированное внутрисосудистое свертывание;
 - определить мутацию в гене *GATA1*;

- при наличии тяжелых жизнеугрожающих симптомов необходимо начать терапию низкими дозами цитарабина;

- при отсутствии тяжелой симптоматики, даже при наличии повышенного количества бластных клеток и мутации в гене *GATA1* – мониторинг до восстановления показателей кроветворения и последующее динамическое наблюдение в течение 5 лет ввиду риска развития ОМЛ.

Острый миелоидный лейкоз

В 20% случаев после спонтанной регрессии ТАМ эволюционирует в ОМЛ [1, 5, 8]. Лейкоз развивается из того же клона, что и предшествующий ТАМ, так как в обоих случаях обнаруживается аналогичная мутация в гене *GATA1*. Но важно отметить, что наличие трисомии 21-й хромосомы и мутации в гене *GATA1* недостаточно для развития лейкоза. Для развития лейкоза необходимо третье событие – появление еще одной мутации. В преобладающем большинстве это мутации в генах-компонентах когезионного комплекса (*STAG2*, *RAD21*, *CTCF*), в генах эпигенетической регуляции (*EZH2*, *SUZ12*), а также в генах сигнальных путей, таких как *RAS*, *JAK-STAT* [8, 21, 22].

ОМЛ у детей с СД обладает рядом характерных особенностей. В 80% случаев он имеет морфологические и иммунофенотипические черты острого мегакариобластного лейкоза (M7-вариант по FAB-классификации). Морфологически часто визуализируется клазматоз цитоплазмы бластных клеток, выявляются положительные неспецифическая эстераза и PAS-реакция в виде гранул в отростках цитоплазмы и тромбоцитах [5, 23].

Имунофенотипически бластные клетки имеют более низкий процент экспрессии мегакариоцитарных маркеров CD61, CD41 и маркера CD2, а также более высокий процент экспрессии CD7, CD13 и CD33 в сравнении с пациентами с острым мегакариобластным лейкозом без СД [24].

Манифестация ОМЛ у детей с СД, как правило, приходится на первые 5 лет жизни с пиком заболеваемости в 2–4 года [1, 5]. Дети с ОМЛ-СД имеют лучшие результаты лечения и более высокие показатели выживаемости, чем дети с ОМЛ без СД. При проведении химиотерапии сниженной интенсивности вероятность излечения ОМЛ составляет 80% и более [1, 5, 8]. В то же время стандартная интенсивная химиотерапия сопряжена у таких пациентов с высоким риском развития неблагоприятных токсических реакций и высокой смертностью от инфекционных осложнений.

Объяснением лучших результатов терапии пациентов с ОМЛ-СД является повышенная чувствительность к химиотерапии. Еще в 1996 г.

Американским сообществом гематологов были представлены результаты исследования, согласно которым миелобласты у детей с ОМЛ-СД примерно в 10 раз более чувствительны к цитарабину после инкубации с препаратом в течение 72 ч, чем миелобласты у детей с ОМЛ без СД [25]. В свою очередь, образование активного метаболита цитарабина – арабинозил цитозина трифосфата – в миелобластах пациентов с СД оказалось значительно выше по сравнению с пациентами без СД [26].

В дальнейшем было обнаружено, что бластные клетки пациентов с ОМЛ-СД существенно более чувствительны к цитарабину, доксорубину, этопозиду и 6-тиогуанину по сравнению с клетками пациентов с ОМЛ без СД и с ОЛЛ и СД [27].

До 1996 г. пациентам с ОМЛ-СД проводилась та же терапия, что и в группе без СД. Ранние исследования продемонстрировали плохую переносимость интенсивного тайминга и частое развитие осложнений, как токсических, так и инфекционных. С 1988 по 1995 г. 5-летняя ОВ составляла 47%. С 1996 г. показатели ОВ увеличились до 75% после внедрения протоколов со сниженной интенсивностью.

В относительно недавнем международном мультицентровом исследовании ML-DS 2006 (2006–2015 гг.) проведен анализ результатов терапии 170 пациентов с ОМЛ-СД. Медиана возраста составила 1 год и 6 месяцев, а медиана наблюдения – 4 года. По сравнению с исторической контрольной группой (протокол из исследования AML-BFM 98) интенсивность терапии была снижена за счет уменьшения кумулятивной дозы этопозиды с 950 до 450 мг/м², сокращения количества люмбальных пункций с 11 до 4, отмены поддерживающей терапии. После проведенной терапии полной ремиссии достигли 85% пациентов, рецидив был отмечен у 5%, умерли 9 пациентов. Несмотря на редукцию химиотерапии, показатели ОВ и БСВ составили 89% и 87% соответственно, а кумулятивный риск рецидива/рефрактерности – 6%. Данные результаты оказались схожими с контрольной группой – BFM 98. Смертность, ассоциированная с терапией, в исследуемой группе составила 2,9% против 5% в группе исторического контроля. Частота тяжелых инфекционных осложнений также в исследовании ML-DS-2006, осно-

ванном на применении низких доз химиопрепаратов, была снижена практически вдвое [28].

Подобные результаты были представлены в исследовании Т. Тага и соавт., опубликованном в 2016 г., в котором зарегистрированы 72 пациента с ОМЛ-СД, получившие терапию сниженной интенсивности. После первого курса индукции ремиссии достигли 69 из 72 пациентов. Трехлетняя ОВ и БСВ составили 87,5% и 83% соответственно [29].

Опубликованные данные различных других исследовательских групп демонстрируют также высокие показатели выживаемости у пациентов с ОМЛ-СД при проведении химиотерапии сниженной интенсивности. Пятилетняя ОВ составляет от 84 до 90%, БСВ – от 79 до 89% (таблица 1) [28–30].

Миелодиспластический синдром

Данные многолетней мировой клинической практики свидетельствуют о том, что МДС у пациентов с СД практически в 100% случаев в период от нескольких месяцев до нескольких лет трансформируется в ОМЛ [1, 5]. В связи с этим совершенно оправдана и целесообразна тактика проведения таким пациентам химиотерапии, аналогичной той, которую получают дети с ОМЛ-СД. Эффективность раннего назначения терапии продемонстрирована в исследовании японских коллег S. Kojima и соавт. с достижением ремиссии в 100% случаев [31]. Аналогичные результаты были получены в крупном исследовании группы COG, в рамках которого проанализированы 70 пациентов с МДС-СД, 5-летняя ОВ и БСВ составили около 94% [32].

Рецидивы и рефрактерные формы

Частота рецидивов у пациентов с ОМЛ-СД крайне низка и составляет от 1,5 до 6% [1, 8]. Однако при возникновении рецидива или при рефрактерном течении заболевания терапевтические опции весьма ограничены, а показатели выживаемости крайне неудовлетворительные. Так, в исследовании, представленном Т. Тага и соавт., в которое были включены 26 пациентов с рецидивом и рефрактерным течением заболевания, 3-летняя ОВ составила 26% [33]. Схожие данные получены Центром международных исследований трансплантации костного

Таблица 1

Результаты терапии пациентов с ОМЛ-СД различных исследовательских групп

Table 1

Treatment results of patients with acute myeloid leukemia (AML) associated with Down syndrome (DS) in different study groups

Исследование Study	Период, годы Time period, years	Число пациентов Number of patients	Даунорубин, мг/м ² Daunorubicin, mg/m ²	Цитозар, мг/м ² Cytosar, mg/m ²	Этопозид, мг/м ² Etoposide, mg/m ²	Летальность, ассоциированная с терапией, % Mortality associated with treatment, %	Пятилетняя ОВ, % Five-year overall survival (OS), %	Пятилетняя БСВ, % Five-year event- free survival (EFS), %
ML-DS-06	2006–2015	170	240	27 400	450	2,9	89	87
AML-BFM 98	1998–2003	204	240	29 400	950	5,0	90	89
COG A2971	1999–2003	132	320	27 200	0	2,3	84	79
JPLSG D05	2008–2010	72	250	3500	1350	1,4	88	83

мозга, протоколом исследования охвачены 28 пациентов с СД, средний возраст на момент трансплантации составил 3 года, 3-летняя ОВ – всего 19% [34].

Результаты терапии пациентов с острым миелоидным лейкозом и синдромом Дауна в рамках мультицентрового протокола ОМЛ-MRD-2018 с 2018 по 2023 г.

Пациенты

В анализ включены 100 пациентов, получавших терапию в 40 клиниках страны с 2018 по 2023 г. Соотношение мальчики:девочки составило 1:1,3, медиана возраста – 1 год и 8 месяцев. Медиана наблюдения за пациентами – 2 года. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

Методы исследования

- Имунофенотипирование выполнялось методом многоцветной проточной цитометрии с использованием наборов стандартных антител к поверхностным и внутриклеточным маркерам [35].

- Кариотипирование клеток костного мозга проводили методом G-banding после краткосрочного культивирования по стандартной методике [36].

- Исследование методом флуоресцентной гибридизации *in situ* с коммерческими ДНК-зондами для определения стратифицирующих хромосомных перестроек при ОМЛ [36].

- Для определения мутаций в гене *GATA1* применяли секвенирование по Сэнгеру, фрагментный анализ; при низком содержании опухолевых клеток в материале костного мозга (< 10%) для выявления мутации в гене *GATA1* лейкоцитарная популяция предварительно выделялась при помощи проточной сортировки клеток [37].

- Для обнаружения небольших клонов с мутацией в гене *GATA1* (< 10%) использовали высокочувствительный метод секвенирования нового поколения с таргетной панелью Human Myeloid Neoplasms (Qiagen, ФРГ).

- Химерные транскрипты определяли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией с мультиплексными системами праймеров и TaqMan-проб [36].

Статистический анализ

В качестве базы данных использовалось программное обеспечение Redcap v9.5.22. Статистический анализ выполнен при помощи программного обеспечения Microsoft Excel и R 4.0.2. ОВ и БСВ рассчитаны по методу Каплана–Майера [38]. Для пациентов с ТАМ расчет ОВ и БСВ производился от даты рождения, для пациентов с МДС/ОМЛ – от даты

установления диагноза. Событиями для ТАМ являлись трансформация в МДС/ОМЛ или смерть, для МДС/ОМЛ – первичная рефрактерность, рецидив, вторая опухоль, смерть до ремиссии, смерть в ремиссии. Для количественных данных определяли медиану, а также максимальное и минимальное значения. Для качественных величин считали частоту (%).

Результаты

У 27 из 100 пациентов с СД выявлен ТАМ, у 64 – ОМЛ, у 13 – МДС (рисунок 1). Дети с ОМЛ-СД составили 15% среди всех ОМЛ, включенных в протокол, исключая пациентов с острым промиелоцитарным лейкозом. Следует отметить, что в течение последних 4 лет отмечен значительный рост регистрации пациентов с ТАМ, что, вероятно, обусловлено большей осведомленностью о данном заболевании врачей-педиатров и улучшением диагностики.

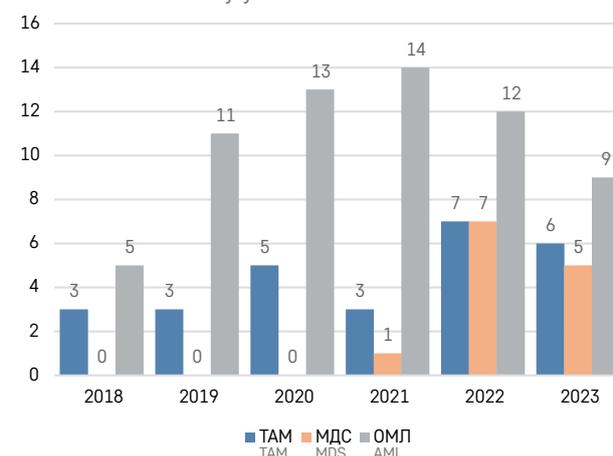
Пациенты с транзиторным аномальным миелопоэзом

Соотношение мальчики:девочки составило 1:1,25. Медиана возраста на момент выявления первых клинических проявлений – 14 дней. Самочувствие у большинства пациентов не страдало, как правило, изменения в анализах крови носили характер случайных находок при проведении скрининговых исследований. Клинически выраженный ТАМ отмечался у 7 пациентов. В качестве ведущих клинических проявлений выступали кожный, геморрагический синдромы и желтуха. Гиперлейкоцитоз зарегистрирован у 10 (37%) пациентов. У 23 (85%) детей наблюдалось повышение бластных клеток в крови более 10% (таблица 2).

Всем пациентам было проведено стандартное кариотипирование клеток костного мозга, во всех

Рисунок 1
Распределение пациентов с ТАМ/ОМЛ/МДС в Российской Федерации по годам

Figure 1
The distribution of patients with transient abnormal myelopoiesis (TAM)/AML/myelodysplastic syndrome (MDS) in the Russian Federation by years



случаях (100%) подтверждена трисомия 21-й хромосомы. Мутация в гене *GATA1* обнаружена практически у всех пациентов (85%). Отсутствие мутации в гене *GATA1* может быть обусловлено недостаточной чувствительностью используемых методов исследования и/или низким содержанием опухолевых клеток в образце костного мозга.

В связи с тяжелым клинически выраженным течением 5 (19%) из 27 детей получили специфическую терапию, из них 3 – низкими дозами цитозара, 1 – монотерапию 6-меркаптопурином, у 1 ребенка выполнены блоки комбинированной химиотерапии цитозаром и даунорубицином по схеме «5 + 2».

У 21 (78%) из 27 детей отмечено разрешение ТАМ, из них у 17 (81%) произошла спонтанная ремиссия. Также достигнута регрессия синдрома у 4 (19%) пациентов, получавших терапию низкими дозами цитозара. У 5 детей после разрешения ТАМ в

Таблица 2

Клиническая характеристика пациентов с ТАМ ($n = 27$)

Table 2

Clinical characteristics of the patients with TAM ($n = 27$)

Параметр Parameter	Значение Value
Медиана возраста Median age	14 дней (1 день – 3,5 месяца) 14 days (1 day – 3.5 months)
Мальчики, n (%) Boys, n (%)	12 (44)
Девочки, n (%) Girls, n (%)	15 (56)
Гепатомегалия, n (%) Hepatomegaly, n (%)	11 (41)
Спленомегалия, n (%) Splenomegaly, n (%)	12 (44)
Желтуха, n (%) Jaundice, n (%)	5 (19)
Выпоты (асцит/плевральный/ перикардиальный), n (%) Effusions (ascites/pleural/pericardial), n (%)	1 (4)
Диссеминированное внутрисосудистое свертывание, n (%) Disseminated intravascular coagulation, n (%)	1 (4)
Кожный геморрагический синдром, n (%) Cutaneous hemorrhagic syndrome, n (%)	8 (30)
Инициальный лейкоцитоз, n (%): Initial leukocytosis, n (%):	
< $50 \times 10^9/\text{л}$ < $50 \times 10^9/\text{L}$	17 (63)
$50-100 \times 10^9/\text{л}$ $50-100 \times 10^9/\text{L}$	2 (7)
$\geq 100 \times 10^9/\text{л}$ $\geq 100 \times 10^9/\text{L}$	8 (30)
Количество бластных клеток в крови > 10%, n (%) The number of blast cells in the blood > 10%, n (%)	23 (85)
Трисомия 21-й хромосомы, n (%) Trisomy of chromosome 21, n (%)	27 (100)
<i>GATA1</i> ^{mut} , n (%)	23 (85)
<i>GATA1</i> ^{wt} , n (%)	4 (15): 3 – не обнаружена 1 – мало бластных клеток 4 (15): 3 – not detected 1 – a few blast cells

Примечание. *GATA1*^{mut} – наличие мутации в гене *GATA1*; *GATA1*^{wt} – отсутствие мутации в гене *GATA1*.

Note. *GATA1*^{mut} – a mutation in the *GATA1* gene; *GATA1*^{wt} – the absence of a mutation in the *GATA1* gene.

последующем развился ОМЛ. Медиана наблюдения за пациентами составила 1,5 года, живы 17 пациентов, умерли 9, из них 6 пациентам требовалось проведение специфической терапии, которая не была осуществлена. У 5 детей причиной летального исхода послужил сепсис, возникший до начала лечения, 1 пациент умер от терминальной печеночной недостаточности, 2 – от прогрессии ОМЛ, 1 ребенок погиб в результате автокатастрофы; 1 пациент выбыл из исследования (потеря из-под наблюдения). Таким образом, показатели ОВ и БСВ на медиану времени наблюдения составили 64% (95% доверительный интервал (ДИ) 47–89) и 52% (95% ДИ 34–78) соответственно (рисунк 2).

Результаты терапии пациентов с миелодиспластическим синдромом/острым миелоидным лейкозом и синдромом Дауна

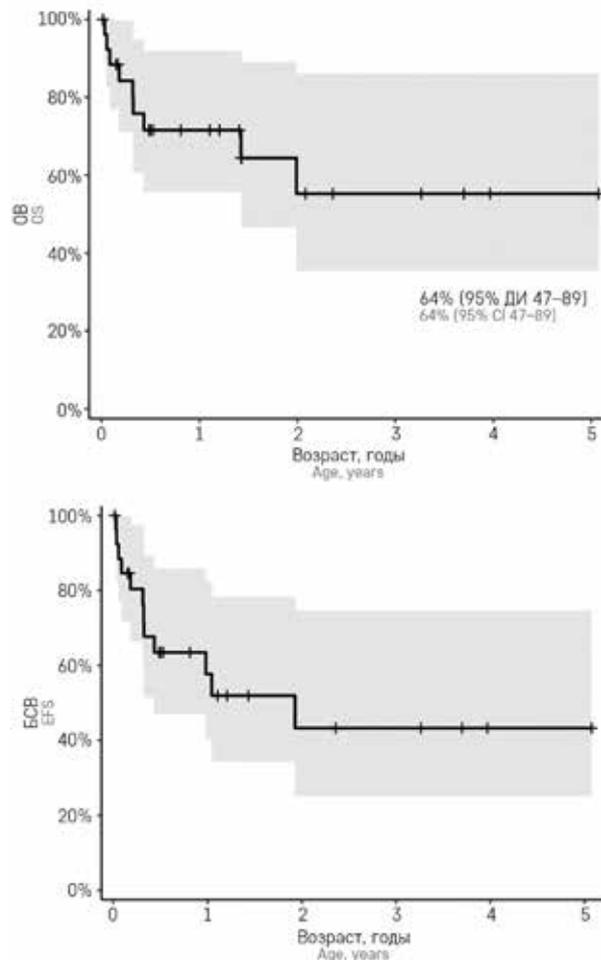
В исследуемую группу были включены 64 пациента с ОМЛ-СД и 13 – с МДС. Соотношение мальчики:девочки составило 1:1,3, медиана возраста – 1 год и 11 месяцев. Ни у одного пациента не были выяв-

Рисунок 2

Показатели полуторагодовой ОВ и БСВ у пациентов с ТАМ

Figure 2

The 1.5-year OS and EFS rates in the patients with TAM



лены симптомы поражения центральной нервной системы и признаки экстрамедуллярного поражения. У 5 детей отмечался гиперлейкоцитоз (минимально $55 \times 10^9/\text{л}$, максимально $127 \times 10^9/\text{л}$) (таблица 3). Гепатомегалия зарегистрирована у 23 (30%) пациентов, спленомегалия – у 30 (39%). Больше чем у половины пациентов – 40 (62%) – был диагностирован М7-вариант по FAB-классификации, М2-вариант выявлен у 3 (5%) детей. У 21 (33%) пациента морфологически диагноз соответствовал М7-варианту, но ввиду недостаточной экспрессии мегакариоцитарных маркеров диагноз определен как Мх-вариант по FAB-классификации (рисунок 3).

Цитогенетический и молекулярно-генетический анализ

Мутации в гене *GATA1* обнаружены у 62 (86%) пациентов из 72; 5 пациентам исследование не было проведено ввиду отсутствия материала. В 35% случаев ($n = 27$) выявлена изолированная трисомия 21-й хромосомы без каких-либо дополнительных хромосомных aberrаций. Клональные хромосомные перестройки в 17% случаев ($n = 13$) были представлены комплексным кариотипом, в 5% ($n = 4$) – трисомией 8, в 4% ($n = 3$) – моносомией/делецией 7, в 1% ($n = 1$) – перестройкой гена *KMT2A*. У 19 (25%) пациентов обнаружены другие нерекуррентные хромосомные aberrации (рисунок 4А, Б).

Высокопроизводительное секвенирование для поиска дополнительных генетических мутаций было проведено 23 пациентам. Самым частым дополнительным событием были мутации в генах *JAK1*, *JAK2* и *JAK3* – у 7 (30%) пациентов и мутации в генах когезино-

вого комплекса *RAD21*, *STAG2*, *SMC3* и *CTCF* – у 7 (30%). Вторыми по частоте встречаемости были мутации в генах эпигенетических регуляторов *EZH2* и *SUZ12* – у 4 (17%) пациентов. Мутации в гене *NRAS* встретились у 3 (13%) пациентов. Одиночные мутации обнаруживались редко, в большинстве случаев мутации из разных групп встречались вместе. Два (10%) пациента не имели дополнительных мутаций (рисунок 4В).

С 2018 по 2023 г. из 77 пациентов с МДС/ОМЛ-СД 2 умерли до начала терапии, 75 получили специфическую терапию. Терапия по протоколу ML-DS-2006 проведена в 48 (63%) случаях. Одиннадцать (14%) пациентов прошли терапию по протоколу AML-BFM-2004 и 15 (20%) получили непрограммную терапию по схемам «7 + 3», «5 + 2», низкие дозы цитарабина. Протоколы группы BFM и ML-DS-2006 включали 4 блока химиотерапии. В протоколе группы BFM была также предусмотрена поддерживающая терапия в течение 1 года (таблица 4, рисунок 5).

Результаты терапии

Полной ремиссии достигли 58 (75%) пациентов. Первично-рефрактерное течение зарегистрировано в 3 (4%) случаях, рецидивы – в 6 (8%). У 1 ребенка отмечалось развитие ОМЛ спустя полгода после разрешения МДС. Медиана наблюдения за пациентами составила 2 года и 4 мес.

Показатели ОВ и БСВ в течение 3 лет у пациентов с МДС/ОМЛ-ДС составили 66% (95% ДИ 56–79) и 62% (95% ДИ 52–75) соответственно (рисунок 6).

В нашем исследовании трансплантация гемопоэтических стволовых клеток проведена 2 пациентам, 1 ребенку – дважды, оба ребенка живы, в ремиссии.

Показатели выживаемости пациентов с ОМЛ-СД оказались ниже международных. Смертность среди

Таблица 3
Клиническая характеристика пациентов с МДС/ОМЛ-СД ($n = 77$)

Table 3
Clinical characteristics of the patients with MDS/AML-DS ($n = 77$)

Параметр Parameter	Значение Value
Медиана возраста Median age	1 год и 11 месяцев (8 месяцев – 17 лет) 1 year and 11 months (8 months – 17 years)
Мальчики, n (%) Boys, n (%)	33 (43)
Девочки, n (%) Girls, n (%)	44 (57)
Поражение центральной нервной системы, n (%) Central nervous system involvement, n (%)	0 (0)
Экстрамедуллярное поражение, n (%) Extramedullary involvement, n (%)	0 (0)
Гепатомегалия, n (%) Hepatomegaly, n (%)	23 (30)
Спленомегалия, n (%) Splenomegaly, n (%)	30 (39)
Инициальный лейкоцитоз, n (%): Initial leukocytosis, n (%):	
< $50 \times 10^9/\text{л}$ < $50 \times 10^9/\text{L}$	72 (93,5)
$\geq 50 \times 10^9/\text{л}$ $\geq 50 \times 10^9/\text{L}$	5 (6,5)

Рисунок 3
Распределение пациентов по вариантам ОМЛ согласно FAB-классификации

Figure 3
The distribution of the patients by AML variants according to the FAB classification

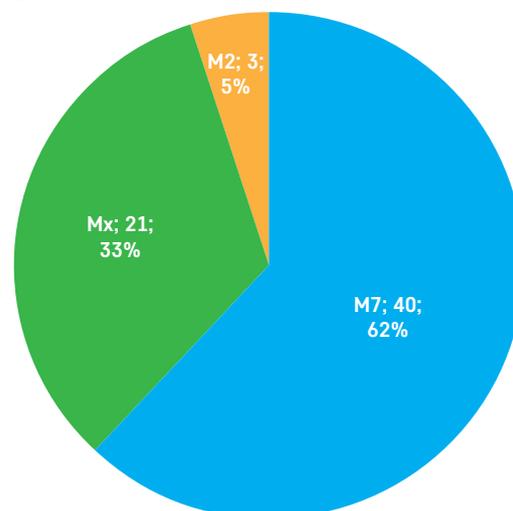


Рисунок 4

Цитогенетическая (А и Б) и молекулярно-генетическая (В) характеристика пациентов с МДС/ОМЛ-СД
 А – хромосомные перестройки, определенные методами стандартного кариотипирования и флуоресцентной гибридизации *in situ*; Б – статус *GATA1* по данным секвенирования по Сэнгеру, фрагментного анализа и высокопроизводительного секвенирования; В – мутационный профиль по данным высокопроизводительного секвенирования

Figure 4

Cytogenetic (A and B) and molecular genetic (B) characteristics of the patients with MDS/AML-DS
 A – chromosomal rearrangements detected by standard karyotyping and fluorescence *in situ* hybridization; Б – *GATA1* status by Sanger sequencing, fragment analysis and high-throughput sequencing; В – mutational profile by high-throughput sequencing

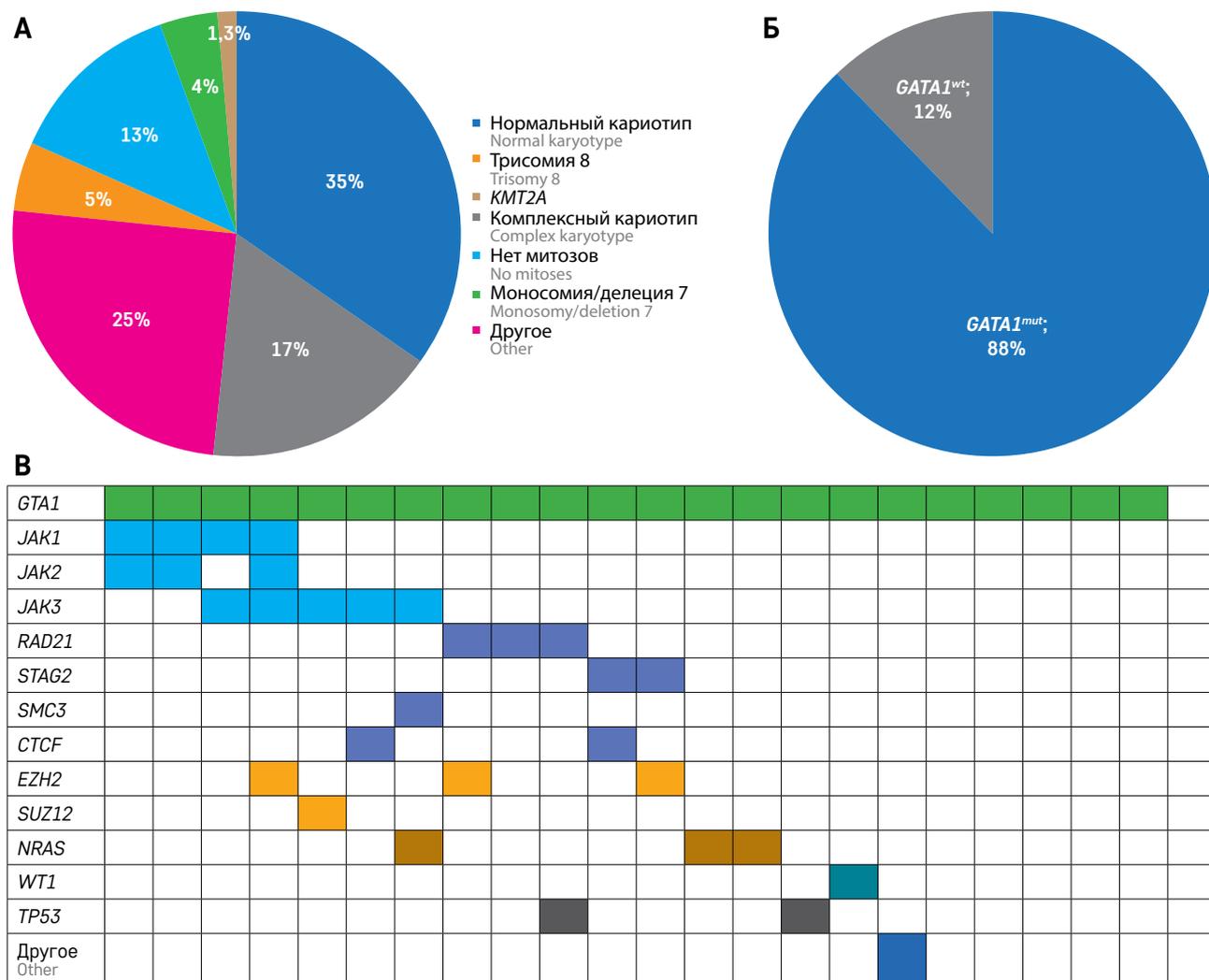


Таблица 4

Результаты терапии пациентов с МДС/ОМЛ-СД

Table 4

Treatment results of the patients with MDS/AML-DS

Терапия Treatment	Число пациентов (n = 77), n (%) Number of patients (n = 77), n (%)	Достижение полной ремиссии (n = 58; 75%), n (%) Achievement of complete remission (n = 58; 75%), n (%)	Рецидивы (n = 6; 8%), n (%) Relapses (n = 6; 8%), n (%)	Первично- рефрактерное течение (n = 3; 4%), n (%) Primary refractory disease (n = 3; 4%), n (%)	Вторая опухоль (n = 1; 1%), n (%) Second tumor (n = 1; 1%), n (%)	Живы (n = 53; 69), n (%) Alive (n = 53; 69), n (%)	Смерть (n = 23; 30), n (%) Death (n = 23; 30), n (%)
ML-DS-2006	48 (63)	34 (71)	4 (8)	3 (6)	1 (2)	32 (67)	16 (33)
AML-BFM	11 (14)	11 (100)	0	0		10 (91)	1 (9)
Непрограммная терапия: «7 + 3», «5 + 2», низкие дозы цитарабина Non-protocol treatment: «7 + 3», «5 + 2», low doses of cytarabine	15 (20)	13 (87)	2 (13)	1 (7)		11 (73)	4
Без терапии No treatment	1 (1)						1 (1)

пациентов в исследуемой группе достигла 30%, 16 (70%) смертельных исходов зарегистрировано до ремиссии, из них 12 (75%) были обусловлены инфекционными осложнениями. Неудовлетворительные

результаты, возможно, связаны, на наш взгляд, с поздним началом антимикробной терапии, недостаточной сопроводительной терапией и социальными аспектами в отношении детей с СД (рисунки 7).

Рисунок 5

Протоколы терапии пациентов с ОМЛ-СД ML-DS-2006: AIE: цитарабин 100 мг/м²/день – 1-й, 2-й дни, цитарабин 100 мг/м²/12 ч – 3–8-й дни, идарубин 8 мг/м²/день – 3, 5, 7-й дни, этопозид 150 мг/м²/день – 6–8-й дни. AI: цитарабин 500 мг/м²/день – 1–4-й дни, идарубин 5 мг/м²/день – 3-й, 5-й дни. HAM: цитарабин 1 г/м²/12 ч – 1–3-й дни, митоксантрон 7 мг/м²/день – 3-й, 4-й дни. HA: цитарабин 3 г/м²/12 ч – 1–3-й дни AML-BFM-98: AIE: цитарабин 100 мг/м²/день – 1-й, 2-й дни, цитарабин 100 мг/м²/12 ч – 3–8-й дни, идарубин 8 мг/м²/день – 3, 5, 7-й дни, этопозид 150 мг/м²/день – 6–8-й дни. AI: цитарабин 500 мг/м²/день – 1–4-й дни, идарубин 5 мг/м²/день – 3-й, 5-й дни. HAM: цитарабин 1 г/м²/12 ч – 1–3-й дни, митоксантрон 7 мг/м²/день – 3-й, 4-й дни. HAE: цитарабин 3 г/м²/12 ч – 1–3-й дни, этопозид 125 мг/м²/день – 2–5-й дни. Поддерживающая терапия в течение 1,5 лет от начала терапии: тиогуанин 40 мг/м², цитарабин 40 мг/м²/день – 4 дня каждые 4 нед

Figure 5

Treatment protocols given to the patients with AML-DS ML-DS-2006: AIE: cytarabine 100 mg/m²/day, Days 1, 2; cytarabine 100 mg/m²/12 h, Days 3–8; idarubicin 8 mg/m²/day, Days 3, 5, 7; etoposide 150 mg/m²/day, Days 6–8. AI: cytarabine 500 mg/m²/day, Days 1–4; idarubicin 5 mg/m²/day, Days 3, 5. HAM: cytarabine 1 g/m²/12 h, Days 1–3; mitoxantrone 7 mg/m²/day, Days 3, 4. HA: cytarabine 3 g/m²/12 h, Days 1–3 AML-BFM-98: AIE: cytarabine 100 mg/m²/day, Days 1, 2; cytarabine 100 mg/m²/12 h, Days 3–8; idarubicin 8 mg/m²/day, Days 3, 5, 7; etoposide 150 mg/m²/day, Days 6–8. AI: cytarabine 500 mg/m²/day, Days 1–4; idarubicin 5 mg/m²/day, Days 3, 5. HAM: cytarabine 1 g/m²/12 h, Days 1–3; mitoxantrone 7 mg/m²/day, Days 3, 4. HAE: cytarabine 3 g/m²/12 h, Days 1–3; etoposide 125 mg/m²/day, Days 2–5. Maintenance treatment during 1.5 years from the start of treatment: thioguanine 40 mg/m², cytarabine 40 mg/m²/day, for 4 days every 4 weeks

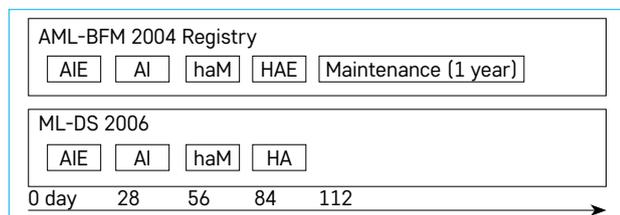


Рисунок 6

Показатели 3-летней ОБ (А) и БСВ (Б) у пациентов с МДС/ОМЛ-СД

Figure 6

The 3-year OS (A) and EFS (B) rates of the patients with MDS/AML-DS

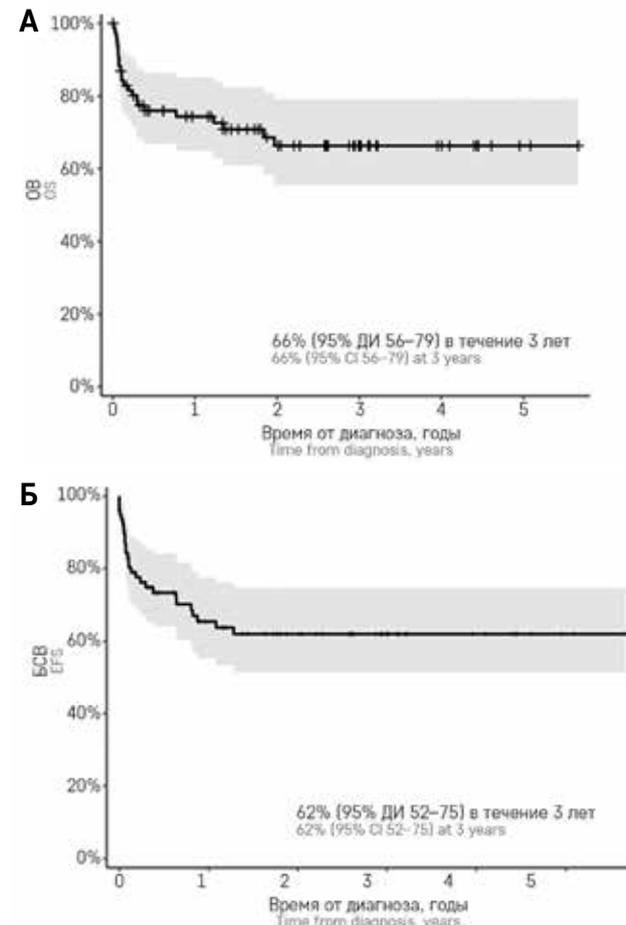


Рисунок 7

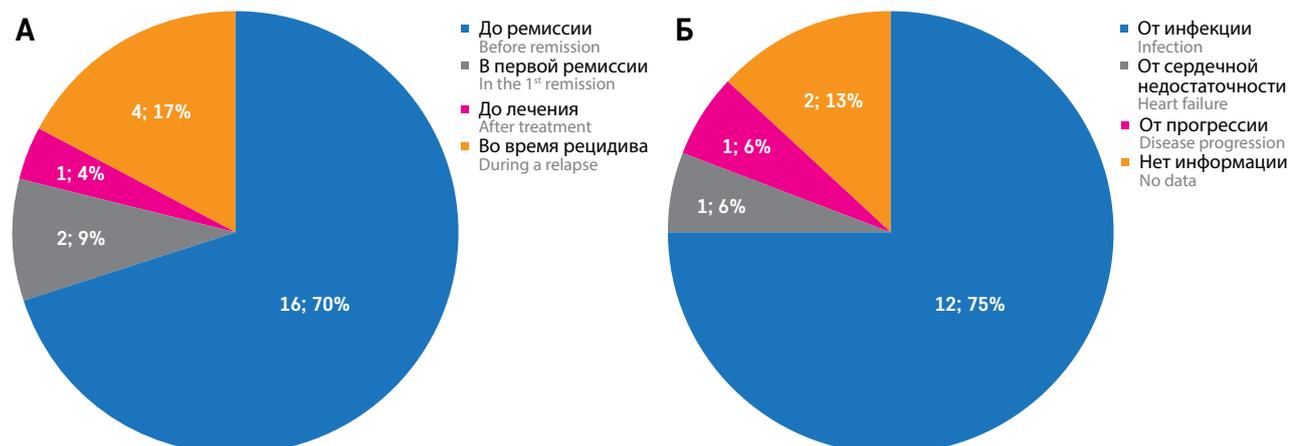
Структура летальности пациентов с МДС/ОМЛ-СД

А – период наступления летального исхода; Б – причины летальности до ремиссии

Figure 7

The timing and causes of mortality among patients with MDS/AML-DS

А – timing of mortality; Б – causes of death before remission



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пациенты с СД представляют собой отдельную группу больных с миелоидными неоплазиями, имеющую свои биологические особенности. Результаты лечения пациентов с ОМЛ-СД на сегодняшний день остаются недостаточно удовлетворительными. Основной проблемой у этих пациентов является высокая токсичность и тяжелые инфекционные осложнения. Таким образом, совершенно очевидна необходимость редукции доз химиотерапевтических агентов, стандартизации терапии ОМЛ-СД в России, внедрения единого протокола лечения детей с миелоидными неоплазиями при СД, регламентирующего дозы препаратов и длительность лечения, единых стандартов сопроводительной терапии, профилактики и лечения инфекционных осложнений.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор статьи подтвердил отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Abashidze Z.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6314-2132>
Kalinina I.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0813-5626>
Khachatryan L.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7265-0414>
Gaskova M.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3277-9018>
Zerkalnikova E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9634-5828>
Kazakova A.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1085-4646>
Olshanskaya Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2352-7716>
Mikhailova E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3450-0498>
Popov A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0889-6986>
Voronin K.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7578-9657>
Maschan A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0016-6698>
Novichkova G.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>

Литература / References

- Boucher A.C., Caldwell K.J., Crispino J.D., Flerlage J.E. Clinical and biological aspects of myeloid leukemia in Down syndrome. *Leukemia* 2021; 35: 3352–60. DOI: 10.1038/s41375-021-01414-y
- Hasle H., Clemmensen I.H., Mikkelsen M. Risks of leukaemia and solid tumours in individuals with Down's syndrome. *Lancet* 2000; 355: 165–9.
- Patja K., Pukkala E., Sund R., Iivainen M., Kaski M. Cancer incidence of persons with Down syndrome in Finland: a population-based study. *Int J Cancer* 2006; 118: 1769–72.
- Goldacre M.J., Wotton C.J., Seagroatt V., Yeates D. Cancers and immune related diseases associated with Down's syndrome: a record linkage study. *Arch Dis Child* 2004; 89: 1014–7.
- Marlow E.C., Ducore J., Kwan M.L., Cheng S.Y., Bowles E.J.A., Greenlee R.T., et al. Leukemia risk in a cohort of 3.9 million children with and without down syndrome. *J Pediatr* 2021; 234: 172–80.e3.
- Baruchel A., Bourquin J.P., Crispino J., Cuartero S., Hasle H., Hitzler J., et al. Down syndrome and leukemia: from basic mechanisms to clinical advances. *Haematologica* 2023; 108 (10): 2570–81. DOI: 10.3324/haematol.2023.283225
- Супрун Р.Н., Румянцева Ю.В., Быданов О.И., Жарикова Л.И., Лагойко С.Н., Лебедев В.В. и др. Острый лимфобластный лейкоз у детей с синдромом Дауна: опыт группы «Москва-Берлин». *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2021; 20 (1): 14–26. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-14-26 [Suprun R.N., Roumiantseva Yu.V., Bydanov O.I., Zharikova L.I., Lagoiko S.N., Lebedev V.V., et al. Acute lymphoblastic leukemia in children with Down syndrome: "Moscow-Berlin" experience. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2021; 20 (1): 14–26. (In Russ.)].
- Khan I., Malinge S., Crispino J. Myeloid leukemia in Down syndrome. *Crit Rev Oncog* 2011; 16 (1–2): 25–36. DOI: 10.1615/critrevoncog.v16.i1-2.40
- Khoury J.D., Solary E., Abla O., Akkari Y., Alaggio R., Apperley J.F., et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia* 2022; 36: 1703–19. DOI: 10.1038/s41375-022-01613-1
- Bhatnagar N., James B., Norton A., O'Marcaigh A.S., Watts T., Watts T., et al. Guidelines for the investigation and management of Transient Leukaemia of Down Syndrome. *Br J Haematol* 2018; 182 (2): 200–11.
- Watanabe K. Recent advances in the understanding of transient abnormal myelopoiesis in Down syndrome. *Pediatr Int* 2019; 61: 222–9.
- Bhatnagar N., Nizery L., Tunstall O., Vyas P., Roberts I. Transient Abnormal Myelopoiesis and AML in Down Syndrome: an Update. *Curr Hematol Malig Rep* 2016; 11 (5): 333–41.
- Roberts I., Izraeli S. Haematopoietic development and leukaemia in Down syndrome. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2015; 14 (3): 13–33. DOI: 10.24287/1726-1708-2015-14-3-13-33
- Banno K., Omori S., Hirata K., Nawa N., Nakagawa N., Nishimura K., et al. Systematic Cellular Disease Models Reveal Synergistic Interactions in Hematopoietic Abnormalities. *Cell Rep* 2016; 15 (6): 1228–41. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.04.031
- Laurent A.P., Kotecha R.S., Malinge S. Gain of chromosome 21 in hematological malignancies: lessons from studying leukemia in children with Down syndrome. *Leukemia* 2020; 34 (8): 1984–99.
- Bianchi E., Norfo R., Pennucci V., Zini R., Manfredini R. Genomic landscape of megakaryopoiesis and platelet function defects. *Blood* 2016; 127 (10): 1249–59.
- Gamis A.S., Alonzo T.A., Gerbing R.B., Hilden J.M., Sorrell A.D., Sharma M., et al. Natural history of transient myeloproliferative disorder clinically diagnosed in Down syndrome neonates: a report from the children's oncology group study A2971. *Blood* 2011; 118: 6752–9; quiz 996.
- Klusmann J.H., Creutzig U., Zimmermann M., Dworzak M., Jorch N., Langebrake C., et al. Treatment and prognostic impact of transient leukemia in neonates with Down syndrome. *Blood* 2008; 111: 2991–8.

19. Massey G.V., Zipursky A., Chang M.N., Doyle J.J., Nasim S., Taub J.W., et al. A prospective study of the natural history of transient leukemia (TL) in neonates with Down syndrome (DS): children's oncology group (COG) study POG-9481. *Blood* 2006; 107: 4606–13.
20. Muramatsu H., Kato K., Watanabe N., Matsumoto K., Nakamura T., Horikoshi Y., et al. Risk factors for early death in neonates with Down syndrome and transient leukaemia. *Br J Haematol* 2008; 142: 610–5.
21. Garnett C., Cruz Hernandez D., Vyas P. GATA1 and cooperating mutations in myeloid leukaemia of Down syndrome. *IUBMB Life* 2020; 72: 119–30.
22. Labuhn M., Perkins K., Matzk S., Varghese L., Garnett C., Papaemanuil E., et al. Mechanisms of Progression of Myeloid Preleukemia to Transformed Myeloid Leukemia in Children with Down Syndrome. *Cancer Cell* 2019; 36 (2): 123–38. e10.
23. Gruber T.A., Downing J.R. The biology of pediatric acute megakaryoblastic leukemia. *Blood* 2015; 126 (8): 943–9. DOI: 10.1182/blood-2015-05-567859
24. Алексенко М.Ю., Илларионова О.И., Вержбицкая Т.Ю., Зеркаленкова Е.А., Новикова И.А., Панферова А.В. и др. Иммунофенотипическая характеристика острого мегакариобластного лейкоза у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2019; 18 (3): 35–40. DOI: 10.24287/1726-1708-2019-18-3-35-40 [Alexenko M.Yu., Illarionova O.I., Verzhbitskaya N.Yu., Zerkalenkova E.A., Novikova I.A., Panferova A.V., et al. Immunophenotypic characterization of acute megakaryoblastic leukaemia in children. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2019; 18 (3): 35–40. (In Russ.)].
25. Zwaan C.M., Kaspers G.J., Pieters R., Hählen K., Janka-Schaub G.E., van Zantwijk C.H., et al. Different drug sensitivity profiles of acute myeloid and lymphoblastic leukemia and normal peripheral blood mononuclear cells in children with and without Down syndrome. *Blood* 2002; 99 (1): 245–51. DOI: 10.1182/blood.v99.1.245
26. Taub J.W., Matherly L.H., Stout M.L., Buck S.A., Gurney J.G., Ravindranath Y. Enhanced metabolism of 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine in Down syndrome cells: a contributing factor to the superior event free survival of Down syndrome children with acute myeloid leukemia. *Blood* 1996; 87 (8): 3395–403.
27. Frost B.M., Gustafsson G., Larsson R., Nygren P., Lönnholm G. Cellular cytotoxic drug sensitivity in children with acute leukemia and Down's syndrome: an explanation to differences in clinical outcome? *Leukemia* 2000; 14: 943–4. DOI: 10.1038/sj.leu.2401753
28. Uffmann M., Rasche M., Zimmermann M., von Neuhoff C., Creutzig U., Dworzak M., et al. Therapy reduction in patients with Down syndrome and myeloid leukemia: the international ML-DS 2006 trial. *Blood* 2017; 129 (25): 3314–21.
29. Taga T., Watanabe T., Tomizawa D., Kudo K., Terui K., Moritake H., et al. Preserved High Probability of Overall Survival with Significant Reduction of Chemotherapy for Myeloid Leukemia in Down Syndrome: A Nationwide Prospective Study in Japan. *Pediatr Blood Cancer* 2016; 63 (2): 248–54. DOI: 10.1002/pbc.25789
30. Sorrell A.D., Alonzo T.A., Hilden J.M., Gerbing R.B., Loew T.W., Hathaway L., et al. Favorable survival maintained in children who have myeloid leukemia associated with Down syndrome using reduced-dose chemotherapy on Children's Oncology Group trial A2971: a report from the Children's Oncology Group. *Cancer* 2012; 118 (19): 4806–14. DOI: 10.1002/cncr.27484
31. Kojima S., Sako M., Kato K., Hosoi G., Sato T., Ohara A., et al. An effective chemotherapeutic regimen for acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome in children with Down's syndrome. *Leukemia* 2000; 14 (5): 786–91.
32. Taub J.W., Berman J.N., Hitzler J.K., Sorrell A.D., Lacayo N.J., Mast K., et al.; Improved outcomes for myeloid leukemia of Down syndrome: a report from the Children's Oncology Group AAML0431 trial. *Blood* 2017; 129 (25): 3304–13
33. Taga T., Saito A.M., Kudo K., Tomizawa D., Terui K., Moritake H., et al. Clinical characteristics and outcome of refractory/relapsed myeloid leukemia in children with Down syndrome. *Blood* 2012; 120 (9): 1810–5.
34. Hitzler J.K., He W., Doyle J., Cairo M., Camitta B.M., Chan K.W., et al; CIBMTR Pediatric Cancer Working Committee. Outcome of transplantation for acute myelogenous leukemia in children with Down syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013; 19 (6): 893–7. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.02.017
35. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Л.В., Дёмина И.А., Михайлова Е.В., Семченкова А.А. и др. Диагностическое иммунофенотипирование острых лейкозов. Рекомендации российско-белорусской кооперативной группы по диагностике острых лейкозов у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2023; 22 (1): 165–77. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-165-177 [Popov A.M., Verzhbitskaya T.Yu., Movchan L.V., Demina I.A., Mikhailova E.V., Semchenkova A.A., et al. Flow cytometry in acute leukemia diagnostics. Guidelines of Russian-Belarusian multicenter group for pediatric leukemia studies. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2023; 22 (1): 165–77. (In Russ.)].
36. Nijs J.I., Gonggrijp H.S., Augustinus E., Leeksa C.H. Hot bands: a simple G-banding method for leukemic metaphases. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 1985; 15 (3–4): 373–4. DOI: 10.1016/0165-4608(85)90181-5
37. Семченкова А.А., Илларионова О.И., Дёмина И.А., Михайлова Е.В., Зеркаленкова Е.А., Захарова Е.С. и др. Рекомендации по применению проточной сортировки клеток в диагностике и мониторинге острых лейкозов. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2023; 22 (4): 186–205. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-4-186-205 [Semchenkova A.A., Illarionova O.I., Demina I.A., Mikhailova E.V., Zerkalenkova E.A., Zakharova E.S., et al. Guidelines for the use of flow cell sorting in diagnosis and monitoring of acute leukemia. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2023; 22 (4): 186–205. (In Russ.)].
38. Слинин А.С., Быданов О.И., Карачунский А.И. Анализ выживаемости и вероятности возникновения отдельных событий у пациентов с острым лейкозом. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2016; 15 (3): 34–9. DOI: 10.24287/1726-1708-2016-15-3-34-3 [Slinin A.S., Bydanov O.I., Karachunskiy A.I. Analysis of survival and possibility of certain events in patients with acute leucosis. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2016; 15 (3): 34–9. (In Russ.)].

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 26.09.2024
Принята к печати 25.10.2024



EDN: DAXTGO

Контактная информация:

Сунцова Елена Викторовна,
научный сотрудник отдела депрессий
крововетворения, миелоидных лейкозов,
редких и наследственных болезней
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: elena.suncova@dgoi.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-34-46

Тромбоцитопения новорожденных: наблюдательное исследование

Е.В. Сунцова, Е.В. Дерипапа, Е.В. Райкина, А.А. Мухина, Ю.А. Родина, Д.Д. Байдильдина, Л.А. Хачатрян, У.Н. Петрова, К.С. Антонова, З.А. Абашидзе, Д.В. Федорова, А.М. Кива, М.А. Курникова, М.В. Гаскова, А.А. Масчан

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

Тромбоцитопения является частым гематологическим симптомом у новорожденных. Этиология неонатальной тромбоцитопении варьирует от распространенных приобретенных причин, таких как иммуноопосредованная тромбоцитопения и сепсис, до редких врожденных синдромов. В клинической практике могут возникнуть объективные трудности при выявлении причин тромбоцитопении у детей первого месяца жизни. Учет всех гематологических и негематологических характеристик новорожденного и членов его семьи необходим для точной верификации диагноза. В настоящей работе проанализирована когорта из 52 детей, развивших тромбоцитопению в период новорожденности, и проведена ретроспективная оценка спектра возможных клинических диагнозов. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Перинатальные инфекции и сепсис часто ассоциированы с тромбоцитопенией. Иммунные формы тромбоцитопении по-прежнему остаются диагнозами исключения. В 18 (34,6%) случаях на основании проведенного молекулярно-генетического обследования были диагностированы редкие врожденные синдромы, ассоциированные с тромбоцитопенией. Несмотря на разнообразную этиологию, на практике основным методом лечения тромбоцитопении в неонатологии остается переливание донорских тромбоцитов с введением внутривенного иммуноглобулина или без него.

Ключевые слова: тромбоцитопения, новорожденные, диагностика

Сунцова Е.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 34–46.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-34-46

Thrombocytopenia of newborns: an observational study

E.V. Suntsova, E.V. Deripapa, E.V. Raykina, A.A. Mukhina, Yu.A. Rodina, D.D. Baydildina, L.A. Khachatryan, U.N. Petrova, K.S. Antonova, Z.A. Abashidze, D.V. Fedorova, A.M. Kieva, M.A. Kurnikova, M.V. Gaskova, A.A. Maschan

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

Thrombocytopenia is a common abnormality in neonates. The etiology of neonatal thrombocytopenia ranges from common acquired causes such as immune-mediated thrombocytopenia and sepsis to rare congenital syndromes. There may be objective difficulties in identifying the causes of thrombocytopenia in newborns in the clinical practice. All hematological and non-hematological features of a newborn and his family members must be taken into account for an accurate diagnosis. In our study, we analysed a cohort of 52 children with thrombocytopenia developed in the neonatal period and retrospectively assessed the range of their possible clinical diagnoses. 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, Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation. Perinatal infections and sepsis are often associated with thrombocytopenia. Immune thrombocytopenias are still "diagnoses of exclusion". In 18 (34.6%) cases, molecular genetic testing confirmed rare congenital syndromes associated with thrombocytopenia. Despite various etiology, donor platelet transfusion with or without intravenous immunoglobulin remains the main treatment method of neonatal thrombocytopenia.

Key words: thrombocytopenia, neonates, diagnosis

Suntsova E.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 34–46.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-34-46

Тромбоцитопения является частой гематологической проблемой неонатального периода [1–5]. Известно, что продукция тромбоцитов начинается приблизительно с 5-й недели внутриутробного развития, постепенно их число у плода повышается и к концу первого триместра достигает нормальных значений [1, 5, 6]. Здоровые доношенные новорожденные имеют такие же значения числа тромбоцитов, как дети старшего возраста и взрослые ($150\text{--}450 \times 10^9/\text{л}$). Около 4% здоровых доношенных детей могут иметь число тромбоцитов $< 150 \times 10^9/\text{л}$ [3]. У недоношенных детей наблюдается широкий диапазон содержания тромбоцитов при рождении [1–3]. Как правило, тромбоцитопенией считается

снижение числа тромбоцитов менее нижней границы общепринятой нормы ($< 150 \times 10^9/\text{л}$) [1, 4, 5, 7]. В настоящее время, согласно F. Rodeghiero, для пациентов любого возраста о тромбоцитопении говорят при снижении числа тромбоцитов $< 100 \times 10^9/\text{л}$ [8]. Тяжелая неонатальная тромбоцитопения определяется при числе тромбоцитов $< 50 \times 10^9/\text{л}$ [2, 4, 5, 7].

Снижение числа тромбоцитов в среднем встречается у 1–5% всех новорожденных [2, 7]. Тромбоцитопения может развиваться внутриутробно или в первые дни после рождения, и значительно чаще отмечается среди недоношенных (около 18,2%), чем среди доношенных (0,8%) новорожденных [2, 6]. Большинство пациентов имеют нетяжелую степень снижения числа

тромбоцитов. Максимальная частота (около 20–50%) неонатальной тромбоцитопении описана у детей, находящихся в тяжелом соматическом состоянии, в отделениях интенсивной терапии и реанимации для новорожденных [2, 4, 6]. Тяжелая тромбоцитопения описывается примерно у 20% таких пациентов [6]. Стоит отметить отсутствие прямой корреляции между тяжестью тромбоцитопении и риском возникновения клинически значимых кровотечений [9]. Серьезные кровотечения могут развиваться у новорожденных как при числе тромбоцитов $< 50 \times 10^9/\text{л}$, так и при нетяжелой тромбоцитопении [10]. Частота развития кровотечений при тяжелой тромбоцитопении составляет около 10–30% [2, 10, 11]. Помимо числа тромбоцитов на риск развития серьезных геморрагических осложнений в неонатальном периоде влияют множественные факторы: малый гестационный возраст, низкая масса и/или тяжелое соматическое состояние при рождении, подлежащее заболевание, гемодинамические нарушения и целостность сосудистых тканей, а также совпадение нескольких предрасполагающих состояний [5]. Неонатальная смертность среди пациентов с тромбоцитопенией составляет около 10% [10–12].

У новорожденных, так же как у детей старшего возраста и взрослых, существует два универсальных механизма снижения числа тромбоцитов: повышение деструкции циркулирующих тромбоцитов и снижение их продукции мегакариоцитами костного мозга [2–4]. В большинстве случаев преобладают причины, приводящие к деструкции тромбоцитов. Однако с клинической точки зрения многие случаи тромбоцитопении в неонатологии характеризуются комплексной этиологией, и, соответственно, механизмы снижения числа тромбоцитов сочетаются [4]. Классификация причин неонатальной тромбоцитопении в зависимости от механизма развития представлена в *таблице 1*.

Подобно другим неонатальным состояниям тромбоцитопения в этот период может быть результатом не только заболевания ребенка, но и являться следствием ряда факторов, вовлеченных в фето-плацентарно-материнское взаимодействие [2]. На снижение числа тромбоцитов у новорожденного влияют инфекционные заболевания матери, прием некоторых лекарств во время беременности, поздний гестоз (артериальная гипертензия, преэклампсия, эклампсия и др.) и/или патология плаценты, а также трансплацентарная передача циркулирующих антител матери [4–6, 11]. Некоторые медицинские процедуры могут вызывать снижение числа тромбоцитов у новорожденного (фототерапия, наличие венозного катетера, заменные трансфузии) [2]. Причины тромбоцитопении различаются в зависимости от общего клинического состояния новорожденного [2, 3]. Для недоношенных детей характерна тромбоцитопения,

связанная с плацентарной недостаточностью и гипоксией в сочетании с незрелостью тромбоцитопоэза и низким уровнем тромбопоэтина [4]. У здорового ребенка более вероятны иммунные формы тромбоцитопении: трансиммунная (ТИ-ТП), например, вследствие циркуляции материнских аутоантител при ИТП или СКВ у матери и ФНАИТ при несовместимости матери и плода по тромбоцитарным антигенам НРА [13]. Реже встречаются врожденные формы тромбоцитопении [14]. У новорожденных, находящихся в тяжелом соматическом состоянии, тромбоцитопения часто развивается вторично по отношению к течению перинатальной инфекции, НЭК, ДВС, респираторным нарушениям и др. [3]. Для врожденного лейкоза не характерно изолированное снижение тромбоцитов.

Этиология неонатальной тромбоцитопении также отличается в зависимости от сроков ее развития [4–6]. Раннее развитие тромбоцитопении (< 72 часов жизни) чаще ассоциировано с осложнениями беременности, плацентарной недостаточностью, фетальной гипоксией, задержкой внутриутробного развития, гестационным диабетом, преэклампсией/эклампсией, внутриутробной инфекцией, ИТП у матери и ФНАИТ. Развитие поздней тромбоцитопении (> 72 часов жизни) характерно для бактериального или грибкового сепсиса и/или НЭК. При некоторых инфекциях, редких метаболических нарушениях и врожденных синдромах (костномозговая недостаточность, дефекты иммунитета и др.) тромбоцитопения может развиваться в различные временные интервалы [3, 4].

Длительность неонатальной тромбоцитопении, исходя из вызвавших ее причин, различна (4–28 дней). Терапевтическая тактика зависит не только от числа тромбоцитов у новорожденного, но и от выраженности геморрагического синдрома и/или наличия факторов риска его развития [4, 7, 9–11]. В некоторых случаях тромбоцитопения может оказаться резистентной к проводимому лечению и/или персистировать после окончания неонатального периода [11].

Таким образом, принимая во внимание широкий спектр неонатальных состояний и заболеваний, а также возможность сочетания нескольких причин, приводящих к снижению числа тромбоцитов, в клинической практике могут возникнуть объективные трудности при выявлении этиологии тромбоцитопении у детей первого месяца жизни. Иногда постановка правильного диагноза может занимать длительное время и требовать проведения сложных цитогенетических и молекулярно-генетических исследований.

Цель настоящего исследования – ретроспективная оценка спектра возможных клинических

диагнозов у детей, развивших тромбоцитопению в период новорожденности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе ретроспективного наблюдательного мультицентрового исследования проведен анализ меди-

цинских документов пациентов, у которых в первый месяц жизни была диагностирована тромбоцитопения (тромбоциты ниже $100 \times 10^9/\text{л}$). Документы пациентов поступили для телемедицинских консультаций в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России из 34 медицинских учреждений (в том числе из 24 перинатальных центров, родильных

Таблица 1

Причины тромбоцитопении (адаптировано из [2–4])

Table 1

Causes of thrombocytopenia (adapted from [2–4])

Тромбоцитопения вследствие повышенной деструкции тромбоцитов Thrombocytopenia due to increased platelet destruction
<p>Иммунные причины: <i>Immune causes:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Присутствие аутоантител: иммунная тромбоцитопения (ИТП), системная красная волчанка (СКВ), вирус иммунодефицита человека у матери • The presence of autoantibodies: immune thrombocytopenia, systemic lupus erythematosus, maternal human immunodeficiency virus infection • Присутствие аллоантител: фетальная/неонатальная аллоиммунная тромбоцитопения (ФНАИТ) • The presence of alloantibodies: fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia • Присутствие лекарственно-зависимых антител: прием матерью медикаментов • The presence of drug-dependent antibodies: maternal medication use <p>Неиммунные причины: <i>Non-immune causes:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Псевдотромбоцитопения (агглютинация тромбоцитов <i>in vitro</i>) • Pseudothrombocytopenia (platelet agglutination <i>in vitro</i>) • Респираторный дистресс-синдром, перинатальная асфиксия, неонатальный аспирационный синдром, болезнь гиалиновых мембран • Respiratory distress syndrome, perinatal asphyxia, neonatal aspiration syndrome, hyaline membrane disease • Внутриутробная задержка роста • Intrauterine growth restriction • Преэклампсия, эклампсия матери • Preeclampsia, maternal eclampsia • Инфекция, сепсис • Infection, sepsis • Некротический энтероколит • Necrotizing enterocolitis • Диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС) • Disseminated intravascular coagulation (DIC) • Гемангиоматоз (синдром Казабаха–Мерритт) • Hemangiomas (Kasabach–Merritt syndrome) • Тяжелая гемолитическая болезнь новорожденных • Severe hemolytic disease of the newborn • Тромботическая микроангиопатия: врожденная тромботическая тромбоцитопеническая пурпура, атипичный гемолитико-уремический синдром • Thrombotic microangiopathy: congenital thrombotic thrombocytopenic purpura, atypical hemolytic uremic syndrome • Неонатальный тромбоз • Neonatal thrombosis • Кардиопульмональный шунт, экстракорпоральная мембранная оксигенация • Cardiopulmonary bypass, extracorporeal membrane oxygenation • Фототерапия • Phototherapy • Полицитемия • Polycythemia
Тромбоцитопения вследствие сниженной продукции тромбоцитов Thrombocytopenia due to decreased platelet production
<p>Приобретенные заболевания: <i>Acquired diseases:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Вирусные инфекции (вирус иммунодефицита человека, цитомегаловирус, краснуха, вирус простого герпеса 6-го типа) • Viral infections (human immunodeficiency virus, cytomegalovirus, rubella, herpes simplex virus type 6) • Врожденный лейкоз • Congenital leukemia • Гистиоцитоз из клеток Лангерганса • Langerhans cell histiocytosis • Нейробластома • Neuroblastoma <p>Врожденные заболевания: <i>Congenital diseases:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Хромосомные аномалии (синдром Шерешевского–Тернера (моносомия X-хромосомы), трисомия 13, 18 и 21-й хромосом) • Chromosomal abnormalities (Turner syndrome (X chromosome monosomy), trisomy 13, 18, 21) • Врожденные тромбоцитопении (TAR-синдром, MYH9-синдром, синдром Бернара–Сулье, синдром серых тромбоцитов, синдром Пари–Труссо/Якобсена (делеция 11q23) и др.), болезнь Виллебранда 2В типа • Congenital thrombocytopenia (TAR syndrome, MYH9-related disease, Bernard–Soulier syndrome, gray platelet syndrome, Paris–Trousseau/Jacobsen syndrome (deletion of 11q23) and others), von Willebrand disease type 2B • Синдромы врожденной костномозговой недостаточности (анемия Фанкони, врожденный дискератоз, амегакариоцитарная тромбоцитопения, MECOM-синдром и др.) • Inherited bone marrow failure syndromes (Fanconi anemia, dyskeratosis congenital, amegakaryocytic thrombocytopenia, MECOM-associated syndrome and others) • Врожденные предлейкемические синдромы (RUNX1, ETV6, ANKRD26 и др.) • Hereditary preleukemic syndromes (RUNX1, ETV6, ANKRD26 and others) • Синдромальные формы первичного иммунодефицита (синдром Вискотта–Олдрича (X-сцепленная тромбоцитопения), синдром Диджорджи (делеция 11q22) и др.) • Syndromic primary immunodeficiencies (Wiskott–Aldrich syndrome (X-linked thrombocytopenia), DiGeorge syndrome (22q11.2 deletion) and others) • Врожденные метаболические нарушения (метилмалоновая ацидемия, кетотическая глицинемия, изовалериановая ацидемия) • Inherited metabolic disorders (methylmalonic acidemia, ketotic glycinemia, isovaleric acidemia) • Остеопетроз • Osteopetrosis

домов или отделений новорожденных), находящихся в 29 городах Российской Федерации, с апреля 2019 г. по июнь 2022 г. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

Были собраны и проанализированы следующие данные: направительные клинические диагнозы, характеристики пациентов (пол, гестационный возраст, масса при рождении, оценка по шкале Апгар, общее состояние при рождении, наличие симптомов инфекции/сепсиса/НЭК, аномалий развития и стигм дисэмбриогенеза, проведенные в роддоме профилактические вакцинации), акушерский анамнез (число беременностей и родов у матери, наличие гестоза и инфекций, прием лекарств, способ родоразрешения), заболевания матери, в том числе гематологические (ИТП, неуточненная тромбоцитопения, гестационная тромбоцитопения и др.), и семейный анамнез, гематологические характеристики пациентов (показатели гемограммы, сроки выявления тромбоцитопении и ее тяжесть, выраженность геморрагического синдрома и его проявления), использованные виды лечения.

При проведении заочных врачебных консилиумов на основании анамнестических и клиничко-лабораторных данных обсуждалась диагностическая и лечебная тактика ведения пациентов. Для части пациентов в целях уточнения генеза развития тромбоцитопении было рекомендовано выполнение молекулярно-генетического исследования. В последующем проведен анализ полученных результатов. При обработке данных оценивались различные описательные статистики (для количественных переменных: минимум, максимум, среднее значение, стандартное отклонение, медиана, для категориальных – частоты и проценты).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проанализирована информация по 52 детям, родившимся в период с июля 2017 г. по май 2022 г. В направленных медицинских документах в виде самостоятельных клинических или сопутствующих диагнозов указывались гематологические: «тромбоцитопения», «тромбоцитопения неясной этиологии», «тромбоцитопения неуточненная», «преходящая неонатальная тромбоцитопения», «транссиммунная тромбоцитопения», «первичная тромбоцитопения», «тромбоцитопеническая пурпура». Средний возраст пациентов на момент консультаций составлял 42 дня (5 дней – 3,4 года), 21 (40,4%) человек – дети первого месяца жизни, 13 (25%) – 2–3 месяцев, 8 (15,4%) – 4–6 месяцев и 10 (19,2%) – старше 6 месяцев. Среди вошедших в исследование пациентов было 38 (73%) мальчиков и 14 (27%) девочек. Медиана

гестационного возраста – 38 (26–41) недель. Медиана массы тела при рождении – 2700 (473–3840) г. Двадцать три (44%) ребенка родились недоношенными, из них с гестационным возрастом < 28 недель (масса тела при рождении 473–1110 г) – 3 ребенка, 29–34 недели (масса тела при рождении 950–2730 г) – 8 детей и 35–37 недель (масса тела при рождении 2050–3500 г) – 12 детей. Оценка тяжести состояния по шкале Апгар соответствовала 7 (1–8) баллам на 1-й минуте и 8 (4–9) баллам на 5-й минуте. Для 34 детей (в возрасте младше 3 месяцев к моменту обращения) более подробно описаны сопутствующие клинические проблемы в период новорожденности. Из них у 19 (56%) человек отмечены гипоксия/асфиксия, респираторный дистресс-синдром, дыхательная недостаточность ($n = 14$), врожденная пневмония и/или приобретенная генерализованная бактериально-грибковая инфекция/сепсис ($n = 9$, из них 6 детей с положительными гемокультурами *Kl. pneumoniae*, *Ps. aeruginosa*, *A. baumannii*, *E. aerogenes*, *St. epidermidis*, *C. albicans* и 7 детей с НЭК), сердечно-сосудистая недостаточность ($n = 6$), неврологическая симптоматика в виде судорожного синдрома ($n = 2$) и гипоксического поражения центральной нервной системы (ЦНС) ($n = 15$), часть детей были с сочетанными осложнениями. Во всей группе из 52 новорожденных аномалии, пороки развития или фенотипические особенности были отмечены у 16 (30,8%) человек: врожденные пороки сердца (дефект межжелудочковой перегородки, дефект межпредсердной перегородки, гипоплазия дуги аорты, аневризма межпредсердной перегородки) ($n = 7$), мочевыделительной системы (мегауретер, пиелозктазия, гидронефроз, кистозная дисплазия почек, гипоспадия) ($n = 7$), аномалии скелета (микрогнатия и расщелина твердого и мягкого неба, лучевая косорукость) ($n = 2$), тугоухость ($n = 1$), атрезия 12-перстной кишки ($n = 1$), диафрагмальная грыжа ($n = 1$), гемангиома ($n = 1$), а также малые аномалии развития или неуточненные стигмы дисэмбриогенеза. В роддоме плановая профилактическая вакцинация против вирусного гепатита В проведена 8 пациентам и БЦЖ – 4 детям.

В исследованной группе дети были рождены от 2-й (1–8-й) беременности и 2-х (1–5-х) родов. Родоразрешение посредством кесарева сечения произведено в 26 случаях. В акушерском анамнезе отмечены по 1 случаю самопроизвольного аборта и замершей беременности. В 2 случаях беременность была многоплодная (одна в результате экстракорпорального оплодотворения). Во время беременности у матерей отмечались проявления раннего токсикоза ($n = 9$) и преэклампсия ($n = 3$), признаки угрозы самопроизвольного прерывания беременности, фето-плацентарной недоста-

точности и гипоксии плода ($n = 11$). Высокий риск хромосомной патологии плода при скрининговом исследовании диагностирован в 3 случаях (дети родились с синдромом Дауна). У 4 матерей на различных сроках беременности (4–36 недель) было задокументировано наличие новой коронавирусной инфекции (без гематологических осложнений – 3 случая, развитие впервые выявленной ИТП – 1 случай). Также у матерей описаны тугоухость и психическое нарушение – по 1 случаю (семьи не дообследованы). При оценке семейного анамнеза выявлен 1 случай близкородственного брака (ребенок родился с амегакариоцитарной тромбоцитопенией), 3 случая младенческой смертности в семьях (из них одна семья мальчика с синдромом Вискотта–Олдрича).

Одиннадцать матерей имели гематологический анамнез, наблюдались и/или получали лечение в связи с тромбоцитопенией. Среди них в ремиссии ИТП (нормальное число тромбоцитов в период беременности и родов) – 4 матери, развитие впервые выявленной постковидной ИТП (тромбоциты $6 \times 10^9/\text{л}$, проведено лечение кортикостероидами и внутривенным иммуноглобулином) на поздних сроках беременности – 1 случай, гестационная тромбоцитопения (число тромбоцитов неизвестно) – 2 женщины, врожденная тромбоцитопения (число тромбоцитов $80\text{--}90 \times 10^9/\text{л}$, точный диагноз установлен после обследования ребенка) – 2 матери, неуточненная тромбоцитопения (тромбоциты $80\text{--}90 \times 10^9/\text{л}$) – 2 женщины (генетическое обследование не выполнено). Отягощенный анамнез в семьях по тромбоцитопении и/или кровоточивости у родственников (помимо матерей) выявлен у 3 детей, из них у 2 человек описаны по одному случаю умеренной тромбоцитопении и предрасположенности к образованию синяков у других детей (обе семьи не были дообследованы).

Ранняя (< 72 часов жизни) неонатальная тромбоцитопения была выявлена в 41 (79%) случае, из них сразу при рождении или в первые сутки жизни – 29, и поздняя (> 72 часов жизни) – в 11 (21%) случаях (на 4–15-е сутки жизни). У 48 пациентов (для которых была доступна подробная медицинская информация) при первом обнаружении патологии число тромбоцитов составило менее $30 \times 10^9/\text{л}$ – у 14 (29%), $30\text{--}50 \times 10^9/\text{л}$ – у 14 (29%) и $50\text{--}100 \times 10^9/\text{л}$ – 20 (42%). Минимальные значения тромбоцитов за период наблюдения у подавляющего числа пациентов соответствовали тяжелой тромбоцитопении: менее $30 \times 10^9/\text{л}$ – у 36 (69,2%), $30\text{--}50 \times 10^9/\text{л}$ – у 11 (21,1%) и $50\text{--}100 \times 10^9/\text{л}$ – у 5 (9,6%). Медианы числа тромбоцитов у доношенных и недоношенных детей были сопоставимы: соответственно $16 (1\text{--}74) \times 10^9/\text{л}$ и $18 (6\text{--}87) \times 10^9/\text{л}$. У 3 из 21 пациента, наблюдавшегося в родильных домах или перинатальных

центрах, ко времени консультаций число тромбоцитов достигло нормальных значений. Клинически геморрагический синдром отсутствовал (или не был описан в медицинских документах) у 13 (25%) пациентов при числе тромбоцитов $12\text{--}56 \times 10^9/\text{л}$. Кожный геморрагический синдром присутствовал у 30 (57,7%) пациентов, из них у 17 – изолированный при числе тромбоцитов $8\text{--}76 \times 10^9/\text{л}$. В 22 (42,3%) клинических случаях наблюдалась кровоточивость из различных анатомических источников и различной степени тяжести. У 6 детей отмечались кровотечения из 2–3 источников. Наиболее часто в исследованной когорте описаны желудочно-кишечные кровотечения ($n = 12$; 23%) при числе тромбоцитов $5\text{--}45 \times 10^9/\text{л}$ и кровоизлияния в ЦНС ($n = 8$; 15%). Случаи кровоизлияний в ЦНС развивались у детей, рожденных на различных сроках гестации (27–40 недель), по локализации они были внутрижелудочковыми ($n = 7$) и внутримозговыми ($n = 1$). Все случаи кровоизлияний в ЦНС диагностированы в первые сутки жизни при числе тромбоцитов $6\text{--}98 \times 10^9/\text{л}$. Кроме того, описаны случаи кровоизлияний в паренхиму легких ($n = 2$), субконъюнктивальные кровоизлияния ($n = 3$), гематурия ($n = 2$), кровотечения из пупочной ранки ($n = 2$), кровотечения со слизистых оболочек ротовой полости ($n = 1$). В клиническом анализе крови гемоглобин в среднем был равен 166 (120–230) г/л у 23 человек и снижен до 95 (60–116) г/л у 14 детей, число лейкоцитов составляло в среднем $10 (3,3\text{--}35) \times 10^9/\text{л}$. В 16 случаях полные клинические анализы крови не были доступны. Основные клинико-лабораторные характеристики пациентов представлены в *таблице 2*.

Достаточные данные для анализа проведенной терапии, направленной на повышение числа тромбоцитов, были доступны в 47 случаях. В группе из 27 новорожденных без видимых кровотечений (с числом тромбоцитов менее $30 \times 10^9/\text{л}$ – 17 человек, $30\text{--}50 \times 10^9/\text{л}$ – 7 детей, $50\text{--}100 \times 10^9/\text{л}$ – 3 ребенка) около половины получали препараты внутривенного иммуноглобулина (ВВИГ), значительно реже – глюкокортикостероиды (ГКС) и профилактические заместительные трансфузии тромбоконцентратом (ТК) – 10 (37%) детей. Среди 20 пациентов с кровотечениями (с числом тромбоцитов менее $30 \times 10^9/\text{л}$ – 16 человек, $30\text{--}50 \times 10^9/\text{л}$ – 3 ребенка, $50\text{--}100 \times 10^9/\text{л}$ – 1 пациент) курсы ВВИГ получали практически все, около трети пациентов – ГКС, 12 (60%) человек – терапевтические трансфузии ТК и почти половина новорожденных – трансфузии свежезамороженной плазмы (СЗП). Кроме того, заместительные трансфузии эритроцитной взвесью проводились в 17 (32,7%) случаях. Также пациенты получали системную противомикробную терапию ($n = 26$), искусственную вентиляцию легких ($n = 14$)

и кардиотоническую поддержку ($n = 6$). Варианты гемостатической терапии (без менадиона натрия бисульфита, этамзилата и антифибринолитиков) представлены в *таблице 3*.

Таблица 2
Клинико-лабораторная характеристика 52 новорожденных с тромбоцитопенией

Table 2
Clinical and laboratory characteristics of 52 newborns with thrombocytopenia

Параметр Parameter	Значение Value
Мальчики/девочки, n (%) Boys/girls, n (%)	38 (73)/14 (27)
Медиана гестационного возраста (разброс), недели Median gestational age (range), weeks	38 (26–41)
Недоношенные, n (%) Premature, n (%)	23 (44)
Медиана массы тела при рождении (разброс), г Median birth weight (range), g	2700 (473–3840)
Осложнения, n^* : Complications, n^* :	19
респираторные и дыхательная недостаточность respiratory complications incl. respiratory failure	14
инфекционные infectious	9
НЭК necrotizing enterocolitis	7
сердечно-сосудистая недостаточность cardiovascular insufficiency	6
неврологические (судороги/гипоксическое поражение ЦНС) neurological (seizures/ hypoxic central nervous system injury)	2/15
Аномалии/пороки/особенности развития, n (%) Developmental anomalies/defects/features, n (%)	16 (30,8)
Медиана времени выявления тромбоцитопении (разброс), сут Median time of detection of thrombocytopenia (range), days	1 (0–15)
Ранняя тромбоцитопения < 72 часов жизни, n (%) Early-onset thrombocytopenia < 72 hours of life, n (%)	41 (79)
Поздняя тромбоцитопения > 72 часов жизни, n (%) Late-onset thrombocytopenia > 72 hours of life, n (%)	11 (21)
Минимальное число тромбоцитов, n (%): Minimum platelet count, n (%):	
< $30 \times 10^9/\text{л}$ < $30 \times 10^9/\text{L}$	36 (69,2)
$30\text{--}50 \times 10^9/\text{л}$ $30\text{--}50 \times 10^9/\text{L}$	11 (21,1)
$50\text{--}100 \times 10^9/\text{л}$ $50\text{--}100 \times 10^9/\text{L}$	5 (9,6)
Отсутствие геморрагического синдрома, n (%) No hemorrhagic syndrome, n (%)	13 (25)
Изолированный кожный геморрагический синдром, n (%) Cutaneous hemorrhage only, n (%)	17 (32,7)
Кожный синдром и кровоизлияния/кровотечения, n (%)** Cutaneous hemorrhage and bleedings, n (%)**	22 (42,3)
Локализация кровоизлияния/кровотечения: Site of hemorrhage/bleeding:	
желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), n (%) gastrointestinal tract, n (%)	12 (23)
ЦНС, n (%) central nervous system, n (%)	8 (15,4)
субконъюнктивальные, n subconjunctival, n	3
легкие, n lungs, n	2
гематурия, n hematuria, n	2
пупочная ранка, n umbilical wound, n	2
слизистые оболочки ротовой полости, n mucous membranes of the oral cavity, n	1

Примечание. * – были пациенты с несколькими осложнениями; ** – были пациенты с кровотечениями из 2–3 источников.
Note. * – there were patients with several complications; ** – there were patients with bleeding from 2–3 sites.

В исследованной когорте новорожденных в качестве основной причины неонатальной тромбоцитопении в 15 случаях посчитали течение тяжелых инфекций. Особенности антенатального и акушерского анамнеза, безусловно, вносили свой вклад в выраженность тромбоцитопении, но, на наш взгляд, не являлись основной причиной снижения числа тромбоцитов. Профилактические вакцинации не ассоциировались с тромбоцитопенией, напротив, тяжесть состояния новорожденных, в том числе низкие тромбоциты, являлись противопоказанием к проведению вакцинаций в роддоме. В 5 случаях рождения детей у матерей с ИТП была диагностирована ТИ-ТП. В 34 клинических случаях в связи с описанием потенциально значимого отягощенного семейного анамнеза ($n = 14$), наличием фенотипических особенностей или пороков развития у детей ($n = 16$), неудовлетворительным ответом на лечение ($n = 28$), персистенцией тромбоцитопении или ее повторным развитием после временного улучшения в неонатальном периоде ($n = 31$) и при сочетании этих признаков представлялось целесообразным выполнение молекулярно-генетического исследования в целях проведения дифференциальной диагностики. В 22 случаях обследование было выполнено в объеме секвенирования по Сэнгеру, высокопроизводительного секвенирования целевых панелей генов или экзона. В 18 (82%) случаях выявлены генетические варианты, объясняющие причины тромбоцитопении на генетическом уровне (16 пациентам точные диагнозы установлены в лаборатории молекулярной биологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России). Причина тромбоцитопении осталась однозначно не верифицированной в 11 случаях (у 3 после проведения генетических тестов). Результаты молекулярно-генетических исследований представлены в *таблице 4*.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Тромбоцитопения остается актуальной гематологической проблемой неонатального периода. Этиология тромбоцитопении новорожденных варьирует от распространенных приобретенных причин, таких как сепсис и иммуноопосредованная тромбоцитопения, до редких наследственных синдромов [2–7, 14, 15]. Учитывая, что точное установление причины тромбоцитопении важно не только для выбора терапевтической тактики, но и для определения прогноза и клинического исхода, во всех случаях снижения числа тромбоцитов у новорожденных необходимо проведение дифференциально-диагностического обследования. Первоначальный диагностический поиск основан на оценке гестационного возраста, общего клинического состояния ребенка, выявлении

Таблица 3
Терапия тромбоцитопении ($n = 47$)

Table 3
Treatment of thrombocytopenia ($n = 47$)

Число тромбоцитов, $\times 10^9/\text{л}$ Platelet count, $\times 10^9/\text{L}$	Пациенты без кровотечений ($n = 27$) Patients without bleeding ($n = 27$)		Пациенты с кровотечениями ($n = 20$) Patients with bleeding ($n = 20$)		
	Терапия Treatment	n	Терапия Treatment	n	
< 30	ВВИГ IVIg	6	ВВИГ IVIg	4	
	ВВИГ + ГКС + ТК IVIg + HSCs + PC	2	ВВИГ + ТК + СЗП IVIg + PC + FFP	3	
	ВВИГ + ГКС + ТК + СЗП IVIg + HSCs + PC + FFP	2	ВВИГ + ГКС IVIg + HSCs	2	
	ВВИГ + ГКС IVIg + HSCs	1	ВВИГ + ГКС + ТК IVIg + HSCs + PC	2	
	ВВИГ + ТК IVIg + PC	1	ВВИГ + ТК IVIg + PC	1	
	ГКС + ТК HSCs + PC	1	ВВИГ + ГКС + СЗП IVIg + HSCs + FFP	1	
	ГКС HSCs	1	ВВИГ + ГКС + ТК + СЗП IVIg + HSCs + PC + FFP	1	
	ТК PC	1	ГКС + ТК HSCs + PC	1	
	ТК+СЗП PC + FFP	1	ТК + СЗП PC + FFP	1	
	Наблюдение Observation	1			
	30–50	ВВИГ IVIg	3	ВВИГ + ТК + СЗП IVIg + PC + FFP	2
		ТК PC	1	ВВИГ + ТК IVIg + PC	1
		ВВИГ + ТК IVIg + PC	1		
Наблюдение Observation		2			
50–100		СЗП FFP	1	СЗП FFP	1
	Наблюдение Observation	2			

Примечание. ГКС – гемопоэтические стволовые клетки.

Notes. IVIg – intravenous immunoglobulin; HSCs – hematopoietic stem cells; PC – platelet concentrate; FFP – fresh frozen plasma.

сопутствующих состояний (кроме тромбоцитопении) и фенотипических особенностей, а также времени развития и степени выраженности тромбоцитопении. Кроме того, важно принимать во внимание антенатальный и акушерский анамнез, выявить заболевания, имеющиеся у матери, и способы их лечения, проанализировать семейный анамнез [14]. Диагностика редких врожденных синдромов возможна после выполнения молекулярно-генетического тестирования [14, 15].

В рамках ретроспективного наблюдательного исследования нами проанализированы результаты обследования и лечения небольшой когорты пациентов, у которых тромбоцитопения впервые была выявлена в неонатальном периоде, и представлен возможный спектр причин снижения числа тромбоцитов. Основной клинической характеристикой данной когорты является высокая частота развития кровоизлияний во внутренние органы, что подтверждается другими исследованиями [5, 7, 10–12]. Например, частота кровоизлияний в ЦНС в нашей селективной когорте новорожденных составила 15% против 0,1–1% у детей с ИТП, по данным литературы [16]. Также обращает на себя внимание явное отсутствие корреляции между числом тромбоцитов и тяжестью геморрагических осложнений [7, 9, 11]. Сложности определения точной причины снижения

числа тромбоцитов, а также прогнозирования рисков развития кровотечений и длительности тромбоцитопении во многих случаях вызывают проблемы с выбором терапевтической тактики.

Наиболее часто причиной появления тромбоцитопении у новорожденных считается развитие неонатального сепсиса и НЭК у недоношенных и маловесных детей [3, 10–12, 17–19]. К снижению числа тромбоцитов могут приводить любые бактериальные, вирусные, грибковые инфекции, в том числе внутриутробные. Патогенез тромбоцитопении на фоне инфекций определяется повреждением эндотелия, повышенным потреблением тромбоцитов и угнетением их продукции [17]. Снижение тромбоцитов может быть ассоциировано с анемией и/или нейтропенией и ДВС. Тромбоцитопения у детей с инфекционными осложнениями, как правило, тяжелая, более 20% пациентов нуждается в заместительных трансфузиях. Однако повышенная смертность в этой группе детей, более вероятно, обусловлена тяжестью септических процессов, а не тромбоцитопенией [11, 18]. В исследованной когорте у 15 (28,8%) новорожденных тромбоцитопения могла быть ассоциирована с развитием инфекции или сепсиса. В нескольких случаях диагноз устанавливали клинически. Подтвержденный сепсис был у 6 новорожденных. Семи пациентам диагностировали НЭК

Таблица 4
Подтвержденные молекулярно-генетические диагнозы
Table 4
Confirmed molecular genetic diagnoses

1	2	3	4	5	6	7	8
Диагноз Diagnosis	Наследование Inheritance	Ген, транскрипт Gene, transcript	Пациент Patient	Вариант по кодирующей последовательности ДНК, белок Coding DNA sequence, protein	Зиготность/частота альтернативного аллеля (VAF) Zygosity/variant allele frequency (VAF)	Тип варианта Variant type	Клиническая значимость Clinical significance
Синдром Вискотта-Олдрича (X-сцепленная тромбоцитопения) Wiskott-Aldrich syndrome (X-linked thrombocytopenia)	X-сцепленное X-linked	VIA5, NM_000377.3	№1	c.177delT, p.(Gly60GluTer16)	Гемизиготный Hemizygous	Делеция со сдвигом рамки считывания Frameshift deletion	Патогенный Pathogenic
			№2	c.873C>A, p.(Tyr291Ter)	Гемизиготный Hemizygous	Нонсенс Nonsense	Вероятно патогенный Likely pathogenic
			№3	c.1502_*4del, p.(?)	Гемизиготный Hemizygous	Потеря стоп-кодона Stop loss	Вероятно патогенный Likely pathogenic
			№4	c.777+1G>A, p.(?)	Гемизиготный Hemizygous	Сайт сплайсинга Splice site	Патогенный Pathogenic
			№5	c.274-1G>A, p.(?)	Гемизиготный Hemizygous	Сайт сплайсинга Splice site	Патогенный Pathogenic
МУН9-ассоциированный синдром MUN9-related disease	Аутосомно-доминантный Autosomal dominant	MUN9, NM_002473.6	№6	c.156G>C, p.(Gln52His)	Гемизиготный Hemizygous	Миссенс Missense	Патогенный Pathogenic
			№7	c.2104C>T, p.(Arg702Cys)	Гетерозиготный Heterozygous	Миссенс Missense	Патогенный Pathogenic
			№8	c.4270G>A, p.(Asp1424Asn)	Гетерозиготный Heterozygous	Миссенс Missense	Патогенный Pathogenic
MECOM-ассоциированный синдром MECOM-associated syndrome	Аутосомно-доминантный Autosomal dominant	MECOM, NM_001105078.4	№9	c.2286-2A>G, p.(?)	Гетерозиготный Heterozygous	Сайт сплайсинга Splice site	Патогенный Pathogenic
			№10	c.985delA, p.(Ser329ValTer13)	Гетерозиготный Heterozygous	Делеция со сдвигом рамки считывания Frameshift deletion	Вероятно патогенный Likely pathogenic
Амегакариоцитарная тромбоцитопения Amegakaryocytic thrombocytopenia	Аутосомно-рецессивный Autosomal recessive	MPL, NM_005373.3	№11	c.269G>C p.(Arg90Pro)	Гомозиготный Homozygous	Миссенс Missense	Неясного клинического значения Uncertain significance
Анемия Фанкони Fanconi anemia	Аутосомно-рецессивный Autosomal recessive	FANCG, NM_004629.2	№12	c.1183_1192del, p.(Glu395TrpTer5). Двукратное снижение покрытия протяженного участка хромосомы 20* A two-fold decrease in the coverage of a region of chromosome 20	Гемизиготный Hemizygous	Делеция со сдвигом рамки считывания Frameshift deletion	Патогенный Pathogenic
						Протяженная делеция Large deletion	Патогенный Pathogenic

1	2	3	4	5	6	7	8
TAR-синдром TAR syndrome	Аутосомно-рецессивный Autosomal recessive	RBM8A, NM_005105.5	№13	с.-21G>A, p(?) Двукратное снижение покрытия прочтениями в области гена RBM8A* A two-fold decrease in the coverage of the RBM8A gene region*	Гемизиготный Hemizygous	Регуляторный Regulatory	Полиморфизм с функциональной значимостью Functional polymorphism
Наследственная тромбоцитическая пурпура Congenital thrombotic thrombocytopenic purpura	Аутосомно-рецессивный Autosomal recessive	ADAMTS13, NM_000552.4	№14	с.540-2A>T, p.(?) с.3616C>T, p.(Arg1206Ter)	Компаунд-гетерозиготное состояние Compound heterozygous	Сайт сплайсинга Splice site Нонсенс Nonsense	Вероятно патогенный Likely pathogenic Патогенный Pathogenic
Синдром Нунан. Транзиторный миелодиспластический/миелопролиферативный синдром Noonan syndrome. Transient myelodysplastic/myeloproliferative syndrome	Аутосомно-доминантный соматический (миелодиспластический синдром) Autosomal dominant somatic (myelodysplastic syndrome)	PTPN11, NM_002834.5	№15	с.417G>C, p.(Glu139Asp)	Гетерозиготный** Heterozygous**	Миссенс Missense	Патогенный Pathogenic
Ювенильный миеломоноцитарный лейкоз Juvenile myelomonocytic leukemia	Аутосомно-доминантный соматический Autosomal dominant somatic	CBL1, NM_005188.3	№16	с.1256G>A, p.(Cys419Tyr)	Гомозиготный (гемизиготный?)*** Homozygous (hemizygous?) ***	Миссенс Missense	Категория IA/патогенный** Tier IA/pathogenic**
Остеопетроз Osteopetrosis	Аутосомно-рецессивный Autosomal recessive	TC/IRG1, NM_006019.3	№17	с.807+5G>A, p.(?)	Гомозиготный Homozygous	Регион сайта сплайсинга Splice site region	Патогенный Pathogenic
Синдром Якобсена Jacobsen syndrome	–	Делеция участка хромосомы 11 Deletion of the region of chromosome 11	№18	arr[GRCh38] 11q24.2q25(125.666,618_135,075,654)x1	Гетерозиготный Heterozygous	Протяженная делеция Large deletion	Патогенный Pathogenic

Примечание. * – верификация делеции с помощью хромосомного микроматричного анализа в работе; ** – герминальный статус подтвержден; *** – статус варианта (герминальный/соматический) не подтвержден.
Note. * – verification of deletion using chromosomal microarray analysis is pending; ** – germline status is confirmed; *** – variant status (germline/somatic) is not confirmed.

(в 2 случаях выполнено оперативное лечение, наложение илеостомы). Снижение числа тромбоцитов отмечено в среднем на 3-и (1–15-е) сутки жизни. Минимально число тромбоцитов снижалось до $17 (5–76) \times 10^9/\text{л}$. Десять новорожденных имели тяжелые кровотечения, в том числе в ЦНС, ЖКТ и легкие. Девять пациентов требовали заместительные трансфузии ТК, 10 детей – ВВИГ. Все пациенты получали системную противомикробную терапию, 9 детей нуждались в искусственной вентиляции легких и 3 ребенка получали кардиотоническую поддержку. Смертность в исследованной группе составила 5 человек.

Другой известной причиной неонатальной тромбоцитопении является ТИ-ТП. У детей, рожденных от матерей с ИТП (и с некоторыми другими аутоиммунными заболеваниями, например СКВ), может развиться тромбоцитопения вследствие трансплацентарной передачи материнских антитромбоцитарных аутоантител (частота 16–56%) [2, 11]. Тяжелые формы ТИ-ТП диагностируются в 8–13% [2, 6, 7]. Тромбоцитопения может развиваться у новорожденных как в случаях активной ИТП, так и в период ремиссии заболевания у матери, в том числе после спленэктомии [2]. Состояние чаще развивается на 1-е сутки, минимальное число тромбоцитов отмечается на 3–5-е сутки. Заболевание может иметь различную тяжесть, кровотечения обычно бывают легкими или умеренными, тяжелые кровотечения составляют 1–4% [7]. Максимальный риск кровотечений отмечается у новорожденных в первые 2 недели жизни. Предиктор тяжелой тромбоцитопении – предшествующая тяжелая ТИ-ТП у сиблинга. При тяжелом течении заболевания проводится терапия ВВИГ [2, 3, 6]. Тромбоцитопения может персистировать до 4 месяцев [2]. В настоящем исследовании ТИ-ТП диагностирована в 5 (9,6%) случаях: 4 матери имели в анамнезе ИТП и нормальное число тромбоцитов к моменту родов, 1 – острую ИТП, развившуюся на позднем сроке беременности. Впервые тромбоцитопения была выявлена на 1–2-е сутки жизни детей, число тромбоцитов составляло $9–56 \times 10^9/\text{л}$, кровотечений не было. В 4 случаях ТИ-ТП разрешилась на терапии (ВВИГ – 2 новорожденных, комбинированная терапия – 2 ребенка), про 1 ребенка нет информации. В одном из клинических случаев мать с детства наблюдалась по поводу хронической ИТП, получала терапию нескольких линий (иммунодепрессанты, агонисты тромбоцетиновых рецепторов, спленэктомия) без достижения гематологического ответа, и только после обследования ребенка обоим была диагностирована врожденная тромбоцитопения (МУН9-синдром). В другом случае у матери также отмечалась нетяжелая тромбоцитопения (предположительно иммунного генеза), которая во время беременности расценивалась как гестационная.

Однако после проведенного дообследования ребенку было установлено точное генетически детерминированное заболевание, унаследованное от матери (MECOM-ассоциированная тромбоцитопения). Таким образом, поскольку ИТП у взрослых и детей является диагнозом исключения, все беременные и матери с персистирующей тромбоцитопенией нуждаются в наблюдении гематолога, а в ряде случаев – в дополнительном обследовании.

Второй иммуноопосредованной причиной снижения числа тромбоцитов у новорожденных является ФНАИТ (частота 1:1000–2000 новорожденных) [2, 20]. Тромбоцитопения развивается вследствие трансплацентарного переноса материнских аллоантител, направленных против антигенов тромбоцитов плода, унаследованных от отца и отсутствующих на тромбоцитах матери [2, 5–7, 19]. Хотя в патогенез ФНАИТ могут быть вовлечены более 30 различных тромбоцит-специфических антигенов, наиболее значимыми у матерей европейского происхождения являются человеческие тромбоцитарные антигены HPA-1a (74–90%) и HPA-5b (15%), расположенные соответственно на гликопротеиновых комплексах GPIIb/IIIa и GPIa/IIa мембраны тромбоцитов, а в азиатской популяции – HPA-4b [5]. Аллосенсибилизация и продукция специфических антител чаще происходят при наличии у женщин ассоциации HPA-1a с человеческим лейкоцитарным антигеном (HLA) DRB3*0101 [2]. Заболевание при таком сочетании обычно протекает тяжелее [13]. Клинические проявления ФНАИТ могут быть умеренными, хотя иногда число тромбоцитов уже внутриутробно снижается до критических значений, сопряженных с серьезными кровотечениями (в том числе кровоизлияниями в ЦНС и другие внутренние органы) у плода или новорожденного, приводящими к инвалидности и смерти [5, 6, 13, 20]. Диагностика ФНАИТ основана на обнаружении антител определенной специфичности в крови матери [2, 3, 6, 13, 20], однако иммунологические тесты имеют невысокую чувствительность и малую доступность. При наличии возможности оба родителя и новорожденный генотипируются по наиболее распространенным аллоантигенам HPA (HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5 и HPA-15) с помощью полимеразной цепной реакции [2, 3, 13, 20]. Объем лечения зависит от тяжести заболевания, в случаях тяжелой ФНАИТ рекомендованы трансфузии донорских тромбоцитов (по возможности HPA-совместимых), которые должны быть лейкодеплетированы с введением ВВИГ или без него [2, 3, 5, 6, 13, 20, 21]. ФНАИТ обычно является самоограниченным процессом и разрешается через 1–6 нед. В нашей когорте на основании клинко-лабораторных данных ФНАИТ была заподозрена в 6 случаях (в одном отмечено формирование порэн-

цефалической деформации головного мозга, в другом – транзиторная тромбоцитопения в период новорожденности у сиблинга), но в связи с отсутствием широких возможностей для проведения тестов, подтверждающих несовместимость ребенка и матери по НРА, ни в одном случае точный диагноз не был установлен. Несмотря на то, что ФНАИТ является хорошо известной и распространенной причиной снижения числа тромбоцитов, часто приводящей к геморрагическим осложнениям и смерти плода или новорожденного, отсутствие широких диагностических возможностей не позволяет верифицировать данный диагноз, что приводит не только к трудностям выбора оптимального лечения для новорожденного, но и к невозможности предотвращения развития серьезных осложнений при последующих беременностях матери.

На основании проанализированной медицинской информации более чем у половины пациентов были выявлены признаки, требующие, по нашему мнению, выполнения дополнительного молекулярно-генетического обследования в целях исключения врожденных причин снижения числа тромбоцитов. Генетически детерминированная тромбоцитопения – группа редких фенотипически неоднородных синдромов [14, 15]. Частота встречаемости данных синдромов среди новорожденных неизвестна [14]. По данным литературы, среди детей старшего возраста наиболее часто встречающимися вариантами являются *MYH9*-ассоциированный синдром и синдром Бернара–Сулье (*GP1BA*, *GP1BB*, *GP9*) [14]. Редкими синдромами являются тромбоцитопения с отсутствием лучевой кости (*RBM8A*), врожденная амегакариоцитарная тромбоцитопения (*MPL*) и амегакариоцитарная тромбоцитопения с радиоульнарным синостозом (*HOXA1*, *MECOM*) [14]. У мальчиков при X-сцепленной тромбоцитопении и синдроме Вискотта–Олдрича (*WAS*) также с рождения отмечается снижение числа тромбоцитов [7]. Низкие тромбоциты при рождении могут быть ранним проявлением наследственной тромбоцитопении с предрасположенностью к развитию злокачественных заболеваний крови (*RUNX1*, *ANKRD26*, *ETV6*) [14, 15]. В нашей группе генетические детерминированные причины тромбоцитопении были подтверждены в 18 (34,6%) случаях. Чаще всего диагностировали синдром Вискотта–Олдрича – 6 случаев. Тромбоцитопения у мальчиков впервые была выявлена на первой неделе жизни, число тромбоцитов составляло $10\text{--}87 \times 10^9/\text{л}$, у 3 отмечались тяжелые геморрагические проявления (ЖКТ-кровотечения, внутрижелудочковое кровоизлияние и кровоизлияние в легкие), требующие терапии. Генетический синдром был заподозрен в возрасте 3–4 месяцев в связи с длительной персистенцией тромбоцитопении. В 2 случаях на основании гене-

тического исследования установлена *MYH9*-ассоциированная тромбоцитопения, характеризующаяся гигантскими формами тромбоцитов и предрасположенностью к развитию в более старшем возрасте тугоухости, почечной недостаточности и катаракты [7, 22]. В обоих случаях тромбоцитопения была выявлена при рождении и персистировала, число тромбоцитов составляло около $30 \times 10^9/\text{л}$, кровотечений не отмечалось. Генетическое подтверждение диагноза получено детьми в возрасте 4 месяцев и 2 лет. Редкий *MECOM*-ассоциированный синдром также был диагностирован в 2 случаях, причем типичный радиоульнарный синостоз был обнаружен только у 1 пациента [23]. По одному случаю диагностированы: *TAR*-синдром (типичная аплазия лучевых костей), амегакариоцитарная тромбоцитопения и наследственная тромбоцитарная тромбоцитопеническая пурпура (инициально в этих 2 случаях предполагался синдром Вискотта–Олдрича), анемия Фанкони (предположен на основании сочетания тромбоцитопении с пороками развития), ювенильный миеломоноцитарный лейкоз (диагноз предположен на основании персистенции тромбоцитопении и спленомегалии), синдром Нунан с миелодиспластическим синдромом (стигмы дисморфогенеза, персистирующая тромбоцитопения, анемия, моноцитоз, гепатомегалия). Кроме того, тромбоцитопения новорожденных может ассоциироваться с хромосомной анеуплоидией, трисомиями 13, 18 и 21-й хромосом или являться частью фенотипа заболеваний с триплоидией, при синдроме Шерешевского–Тернера (45X0) или хромосомных делециях, вызывающих синдромы Пари–Труссо/Якобсена (11q) или Диджорджи (22q11.2) [11, 12]. В исследованной когорте у 4 новорожденных тромбоцитопения ассоциировалась с синдромом Дауна. Два редких диагноза (остеопетроз и синдром Якобсена) были выявлены в других лабораториях.

Независимо от разнообразия причин, приводящих к снижению числа тромбоцитов, в большинстве случаев основным методом лечения тяжелой тромбоцитопении в клинической практике остается переливание донорских тромбоцитов с введением ВВИГ или без него [3–7, 9, 20, 21]. Значения количества тромбоцитов, при которых требуются заместительные трансфузии на протяжении многих лет, в разных неонатальных центрах сильно варьируют [2–6]. Наиболее часто рекомендуют руководствоваться пороговым значением числа тромбоцитов $25 \times 10^9/\text{л}$ за исключением случаев повышенного риска кровотечений [3, 14]. Абсолютными показаниями для применения трансфузий ТК у новорожденных являются активные кровотечения. Повышенный риск развития геморрагических осложнений имеют недоношенные и маловесные дети первых 7 суток жизни [11]. Высокая вероятность

развития кровотечений существует при сепсисе, травме, необходимости инвазивных процедур и оперативных вмешательств, а также у детей с тяжелыми приобретенными и врожденными заболеваниями крови. При иммунной этиологии снижения числа тромбоцитов эффективной терапией является ВВИГ. В некоторых случаях может быть эффективно применение агонистов тромбопоэтиновых рецепторов [4, 6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то, что настоящее исследование обладает рядом ограничений, связанных с его наблюдательным характером, оно дает представление о возможных причинах снижения числа тромбоцитов у детей в неонатальном периоде. Широкий спектр дифференциальной диагностики неонатальной тромбоцитопении требует тщательной оценки гематологических и негематологических особенностей заболевания новорожденного, его матери, а иногда и членов семьи. Учет всех фенотипических характеристик необходим для точной верификации диагноза. Неонатальный сепсис нередко ассоциирован с тромбоцитопенией. Иммунные формы тромбоцитопении остаются диагнозами исключения. Для новорожденных с персистирующей тромбоцитопенией неизвестной этиологии и/или при наличии у них синдромальных особенностей, и/или потенциально значимого семейного анамнеза необходимо более широкое диагностическое обследование с применением технологий следующего поколения, позволяющих проводить высокопроизводительный анализ больших генных панелей, экзомов или геномов. Хотя неонатальная тромбоцитопения встречается достаточно часто, вопросы по объему дифференциальной диагностики, прогнозированию риска развития кровотечений и вариантам лечения этого состояния остаются актуальными для специалистов разных педиатрических специальностей.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы статьи выражают благодарность коллегам из специализированных медицинских учреждений:

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

ГБУЗ РХ «Республиканский клинический перинатальный центр» (Абакан);

ГБУЗ КО «Калужская областная клиническая больница» (Калуга);

ГБУЗ «Детская республиканская клиническая больница» (Улан-Удэ);

ГБУЗ «Республиканский клинический перинатальный центр» Минздрава Республики Башкортостан (Уфа);

ГБУЗ «Республиканская детская клиническая больница» Минздрава Республики Башкортостан (Уфа);

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Уфа);

КГБУЗ «Красноярский краевой клинический центр охраны материнства и детства» (Красноярск);

ГБУЗ НО «Нижегородская областная детская клиническая больница» (Нижний Новгород);

ГБУЗ «Оренбургский клинический перинатальный центр» (Оренбург);

ГБУЗ «Областная детская клиническая больница» (Оренбург);

ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница» (Екатеринбург);

ОБУЗ «Областная детская клиническая больница» (Курск);

ГБУЗ ЧР «Республиканский перинатальный центр» (Грозный);

ГБУ «Республиканская детская клиническая больница имени Е.П. Глинки» (Грозный);

ГБУ РС (Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины им. М.Е. Николаева» (Якутск);

ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» Минздрава Краснодарского края (Краснодар);

ФГАУ «Национальный Медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России (Москва);

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» (Иваново);

ГБУЗ РТ «Детская республиканская клиническая больница» (Казань);

БУ ЧР «Республиканская детская клиническая больница» Минздрава Чувашской Республики (Чебоксары);

ГБУЗ «Детская областная больница Калининградской области», (Калининград);

ГБУЗ ТО «Перинатальный центр» (Тюмень);

ГБУЗ НСО «Государственная новосибирская областная клиническая больница» (Новосибирск);

ГБУЗ «Республиканская детская клиническая больница» Минздрава РСО – Алания (Владикавказ);

ГБУ РД «Детская республиканская клиническая больница им. Н.М. Кураева» (Махачкала);

ГБУЗ «Кузбасская областная клиническая больница им. С.В. Беяева» (Кемерово);

ГБУЗ «Сахалинская областная клиническая больница» (Южно-Сахалинск);

ГБУЗ «Тамбовская областная детская клиническая больница» (Тамбов);

ГБУЗ «Челябинская областная детская клиническая больница» (Челябинск);

ГБУ РО «Областная детская клиническая больница им. Н.В. Дмитриевой» (Рязань);

ГУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер» (Волгоград);

ГБУ РМЭ «Йошкар-Олинская детская городская больница им. Л.И. Соколовой» (Йошкар-Ола).

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

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

Deripava E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9083-4783>

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

Mukhina A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-305-1694>

Rodina Yu.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9857-4456>

Baydildina D.D. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7130-8596>

Khachatryan L.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7265-0414>

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

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

Abashidze Z.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6314-2132>

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

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

Kieva A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2467-2840>

Gaskova M.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3277-9018>

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

Литература / References

- de Alacon P.A., Werner E. Neonatal Hematology. Cambridge University Press; 2005.
- Donato H. Neonatal thrombocytopenia: A review. I. Definitions, differential diagnosis, causes, immune thrombocytopenia. Arch Argent Pediatr 2021; 119 (3): e202–14.
- Donato H. Neonatal thrombocytopenia: A review. II. Non-immune thrombocytopenia; platelet transfusion. Arch Argent Pediatr 2021; 119 (4): e303–14.
- Sola-Visner M., Saxonhouse M.A., Brown R.E. Neonatal thrombocytopenia: what we do and don't know. Early Hum Dev 2008; 84 (8): 499–506.
- Chakravorty S., Roberts I. How I manage neonatal thrombocytopenia. Br J Haematol 2012; 156 (2): 155–62.
- Roberts I., Murray N.A. Neonatal thrombocytopenia: causes and management. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2003; 88 (5): F359–64.
- Gunnink S.F., Vlug R., Fijnvandraat K., van der Bom J.G., Stanworth S.J., Lopriore E. Neonatal thrombocytopenia: etiology, management and outcome. Expert Rev Hematol 2014; 7 (3): 387–95.
- Rodeghiero F., Stasi R., Gernsheimer T., Michel M., Provan D., Arnold D.M., et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. Blood 2009; 113 (11): 2386–93.
- Patel R.M., Josephson C. Neonatal and pediatric platelet transfusions: current concepts and controversies. Curr Opin Hematol 2019; 26 (6): 466–72.
- Peng T., Shan Y., Zhang P., Cheng G. Bleeding in neonates with severe thrombocytopenia: a retrospective cohort study. BMC Pediatr 2022; 22 (1): 730.
- Resch E., Hinkas O., Urlesberger B., Resch B. Neonatal thrombocytopenia-causes and outcomes following platelet transfusions. Eur J Pediatr 2018; 177 (7): 1045–52.
- Saber A.M., Aziz S.P., Almasry A.Z.E., Mahmoud R.A. Risk factors for severity of thrombocytopenia in full term infants: a single center study. Ital J Pediatr 2021; 47 (1): 7.
- Peterson J.A., McFarland J.G., Curtis B.R., Aster R.H. Neonatal alloimmune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnosis and management. Br J Haematol 2013; 161 (1): 3–14.
- Pecci A., Balduini C.L. Inherited thrombocytopenias: an updated guide for clinicians. Blood Rev 2021; 48: 100784.
- Stanworth S.J., Mumford A.D. How I diagnose and treat neonatal thrombocytopenia. Blood 2023; 141 (22): 2685–97.
- Butros L.J., Bussel J.B. Intracranial hemorrhage in immune thrombocytopenic purpura: a retrospective analysis. J Pediatr Hematol Oncol 2003; 25 (8): 660–4.
- Ree I.M.C., Fustolo-Gunnink S.F., Bekker V., Fijnvandraat K.J., Steggerda S.J., Lopriore E. Thrombocytopenia in neonatal sepsis: Incidence, severity and risk factors. PLoS One 2017; 12 (10): e0185581.
- Eltawel M., AlHarbi T., AlJamaan K., Alsaif S., Ali Y., Salam M. A Prospective Study on the Incidence and Outcomes of Neonatal Thrombocytopenia at a Tertiary Care Facility in Central Saudi Arabia. Adv Neonatal Care 2018; 18 (5): E3–12.
- Arabdin M., Khan A., Zia S., Khan S., Khan G.S., Shahid M. Frequency and Severity of Thrombocytopenia in Neonatal Sepsis. Cureus 2022; 14 (2): e22665.
- Brojer E., Husebekk A., Dębska M., Uhrynowska M., Guz K., Orzińska A., et al. Fetal/Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia: Pathogenesis, Diagnostics and Prevention. Arch Immunol Ther Exp (Warsz) 2016; 64 (4): 279–90.
- Carr R., Kelly A.M., Williamson L.M. Neonatal thrombocytopenia and platelet transfusion - a UK perspective. Neonatology 2015; 107 (1): 1–7.
- Масчан А.А., Хачатрян Л.А., Сунцова Е.В., Новичкова Г.А. Дифференциальный диагноз и подходы к лечению тромбоцитопений у детей первого месяца жизни. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского 2019; 92 (2): 157–65. [Maschan A.A., Khachatryan L.A., Suntsova E.V., Novichkova G.A. Differential diagnosis and approaches to the treatment of thrombocytopenia in children of the first month of life. Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky 2019; 98 (2): 157–65. (In Russ.)].
- Гуржиханова М.Х., Шестопалов Г.И., Васильева М.С., Петрова У.Н., Антонова К.С., Федорова Д.В. и др. MECOM-ассоциированный синдром: обзор литературы и собственные клинические наблюдения. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2022; 21 (3): 65–76. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-65-76 [Gurzhikhonova M.Kh., Shestopalov G.I., Vasilyeva M.S., Petrova U.N., Antonova K.S., Fedorova D.V., et al. MECOM-associated syndrome: a literature review and case reports. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2022; 21 (3): 65–76. (In Russ.)].

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 26.09.2024
Принята к печати 25.10.2024



EDN: DDBXMI

Контактная информация:

Першин Борис Сергеевич,
врач-офтальмолог, старший научный
сотрудник отдела хирургии головы и шеи
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: bpershin1984@yandex.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-48-53

Оценка безопасности серийных интравитреальных введений противовирусных препаратов с забором внутриглазной жидкости при цитомегаловирусном ретините у детей-реципиентов аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

Б.С. Першин, А.Б. Смирнова, Е.В. Розанцева, О.Н. Мироненко, А.А. Масчан

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

Мониторинг вирусной нагрузки во внутриглазной жидкости и интравитреальное введение (ИВВ) противовирусных препаратов при цитомегаловирусном ретините у реципиентов гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) являются эффективным методом контроля заболевания наряду с системной противовирусной терапией, однако безопасность этого метода у детей не изучена. Анализ осложнений серийных заборов внутриглазной жидкости и ИВВ противовирусных препаратов (боль, кровоизлияния, эрозия роговицы) был выполнен после 585 ИВВ у 48 детей-реципиентов ГСК. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Боль оценивалась по визуальной аналоговой шкале, для выявления других осложнений проводилась офтальмоскопия до ИВВ и на следующий день после манипуляции (всего 1174 исследования). В результате исследования показано, что боль сразу после ИВВ является практически неизбежным последствием самой процедуры (43 (96%) из 45 пациентов; после 92% введений) и не зависит от вводимого препарата или его концентрации. Наиболее распространенным осложнением оказалось субконъюнктивальное кровоизлияние разной степени выраженности (16%), редкие осложнения представлены гипфемой (0,3%) и эрозией роговицы. Серийные ИВВ противовирусных препаратов с забором внутриглазной жидкости у детей-реципиентов аллогенных ГСК являются эффективным и безопасным методом лечения цитомегаловирусного ретинита, однако неизбежно вызывают постманипуляционную боль, требующую медикаментозного обезболивания.

Ключевые слова: цитомегаловирусный ретинит, трансплантация гемопоэтических клеток, интравитреальное введение, дети

Першин Б.С. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 48–53.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-48-53

The assessment of the safety of serial intravitreal injections of antiviral drugs with intraocular fluid sampling for cytomegalovirus retinitis in pediatric recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

B.S. Pershin, A.B. Smirnova, E.V. Rozantseva, O.N. Mironenko, A.A. Maschan

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

Monitoring of viral "load" in intraocular fluid and intravitreal injections (IVIs) of antiviral drugs along with systemic antiviral therapy is an effective measure of control of cytomegalovirus retinitis in hematopoietic stem cell (HSC) recipients, but the safety of this method in children has not been studied. Complications of serial intraocular fluid sampling and IVIs of antiviral drugs (pain, hemorrhage, corneal erosion) were evaluated after 585 IVIs in 48 pediatric HSC recipients. 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. Pain was assessed using the visual analog pain scale, and ophthalmoscopy was performed before the IVI and the day after it to detect other complications (1174 exams). Pain developing immediately after the IVI was shown to be an almost inevitable consequence of the procedure (43 (96%) of 45 patients; after 92% of injections) and was independent of the drug administered (ganciclovir vs foscarnet) or its concentration. The most common complication was subconjunctival hemorrhage of varying severity (16%), with rare complications represented by hyphema (0.3%) and corneal erosion. Serial IVIs of antiviral drugs with intraocular fluid sampling is an effective and safe method of treatment of cytomegalovirus retinitis in pediatric recipients of allogeneic HSC, but it inevitably causes post-manipulation pain requiring analgesia.

Key words: cytomegalovirus retinitis, hematopoietic cell transplantation, intravitreal injection, children

Pershin B.S., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 48–53.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-48-53

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 26.09.2024
Accepted 25.10.2024

Correspondence:

Boris S. Pershin,
an ophthalmologist, a senior researcher
of the Department of Head and Neck Surgery
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: bpershin1984@yandex.ru

Цитомегаловирусный ретинит (ЦМВР) – это воспалительно-некротическое заболевание сетчатки, которое при естественной эволюции закономерно приводит к значительному снижению остроты зрения вплоть до необратимой слепоты [1–4]. Исход ЦМВР напрямую зависит от сроков начала его лечения [5, 6], при этом дополнение системной терапии (внутривенно и/или внутрь) введением вирусостатиков напрямую в стекловидное тело значительно превосходит по эффективности только системное применение этих препаратов [7]. Наиболее действенным методом лечения ЦМВР является интравитреальная терапия, наиболее часто осуществляемая путем серийных интравитреальных введений (ИВВ) вирусостатиков с контролем эффективности при помощи полимеразной цепной реакции внутриглазной жидкости [8, 9].

ИВВ лекарственных препаратов является самой распространенной хирургической манипуляцией в офтальмологии в течение последних 10 лет. Основными реципиентами ИВВ являются взрослые пациенты с неоваскуляризацией сетчатки разного генеза, получающие бевацизумаб, афлиберцепт или другие антиангиогенные препараты.

В работе Miller и соавт. исследованы осложнения 73 246 ИВВ, и было показано, что острые осложнения, требующие врачебного вмешательства, развились после 441 (0,6%) ИВВ, из них 12,55% составила задняя отслойка стекловидного тела, 9,5% – боль после манипуляции, 9,8% – эрозии роговицы, 7,5% – конъюнктивальные кровоизлияния, 6,6% – сухость и ощущение песка в глазу, 4,5% – эндофтальмит, 4,1% – гемофтальм, 2,5% – увеит, 1,6% – повышение внутриглазного давления, 0,9% – отслойка сетчатки, 0,45% – травматическая катаракта [10]. В исследовании Ramos и соавт., изучавших осложнения ИВВ у 5318 пациентов, перенесших суммарно 44 734 ИВВ, осложнения описаны после 1031 ИВВ у 685 пациентов. Среди них раздражение конъюнктивы – 312, конъюнктивальное кровоизлияние – 284, эрозия роговицы – 46, иридоциклит – 31 [11]. В исследовании Jamrozki-Witkowska и соавт. опубликован анализ осложнений ИВВ в 943 глаза, самыми частыми побочными явлениями были субконъюнктивальные кровоизлияния (36%) и транзиторное повышение внутриглазного давления (23,4%). Также в этой работе описано ускорение развития катаракты: часто – у пациентов, получавших триамцинолон (23,4% случаев), и редко – у пациентов, получавших лечение ингибиторами неоваскуляризации (0,6%), также выявлялись передний увеит (1,7%), передне-задний увеит (0,8%) и эндофтальмит (0,4%) [12].

ИВВ противовирусных препаратов является значительно более редкой манипуляцией, чем аналогичное введение ингибиторов неоваскуляризации или

стероидных и нестероидных противовоспалительных препаратов. В 2010 г. описан случай кристаллизации ганцикловира в витреальной полости после его введения в концентрации 4 мг/0,04 мл (100 мг/мл!). Необходимо отметить, что эта концентрация превышает все описанные в литературе дозировки [12].

ИВВ противовирусных препаратов является очень эффективным способом лечения ЦМВР [13]. Значение местного лечения вирусного ретинонекроза возрастает с учетом миелосупрессивного действия ганцикловира при системном применении, являющегося крайне нежелательным побочным эффектом препарата у реципиентов гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), у которых костномозговой резерв в значительной мере редуцирован [14]. Принимая во внимание особенности детей-реципиентов ГСК, такие как нарушения трофики и заживления в результате системной терапии глюкокортикоидами, болезнь «трансплантат против хозяина», часто – тромбоцитопения и др., а также тот факт, что ИВВ выполняются им с существенно более короткими интервалами, чем взрослым пациентам с неоваскуляризацией сетчатки, можно предположить, что частота осложнений данной манипуляции также будет отличаться от общей офтальмологической практики. Исходя из вышеизложенного, **целью данного исследования** стало определение безопасности серийных ИВВ противовирусных препаратов с забором внутриглазной жидкости у детей-реципиентов ГСК, страдающих ЦМВР.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Безопасность ИВВ противовирусных препаратов изучалась на пациентах НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, которые проходили лечение в посттрансплантационном периоде по поводу ЦМВР при помощи данного метода с мониторингом динамики результатов количественной полимеразной цепной реакции на ДНК цитомегаловируса во внутриглазной жидкости. В работе были оценены все описанные в литературе осложнения кроме повышения внутриглазного давления, измерение которого у детей затруднено. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Анализировались частота и выраженность следующих высоковероятных осложнений: боль, субконъюнктивальные кровоизлияния (геморрагии, занимающие не более одного квадранта конъюнктивы), субконъюнктивальные кровотечения (геморрагии, занимающие более одного квадранта конъюнктивы), иридоциклит, эндофтальмит, эрозия роговицы, катаракта, гемофтальм, гифема, отслойка сетчатки, кристаллизация ганцикловира. ИВВ проводились под общим обезболиванием севофлураном в

условиях операционной. Кроме ИВВ в рамках одной процедуры выполнялись офтальмоскопия, флуоресцентная ангиография сетчатки и забор внутриглазной жидкости для проведения количественной полимеразной цепной реакции на ДНК цитомегаловируса.

ИВВ препарата проводилось в условиях операционной, при помощи игл калибром 32 Ga, отступив от лимба роговицы 3,5 мм, меняя угол направления иглы внутри склеры для того, чтобы прокол самостоятельно герметизировался после извлечения иглы. Объем вводимого препарата во всех случаях составлял 0,1 мл. Забор внутриглазной жидкости проводился из передней камеры глаза при помощи иглы калибром 32 Ga через периферическую часть роговицы. Длина введения иглы составляла 1,5 мм, благодаря чему парацентез герметизировался самостоятельно.

Все осложнения кроме боли оценивались по результатам офтальмологического обследования, которое включало в себя биомикроскопию переднего отрезка и офтальмоскопию заднего отрезка глазного яблока. Для оценки различий встречаемости разных осложнений в зависимости от вида и объема терапии использовался тест хи-квадрат.

Оценка боли

В анализ боли включены 48 пациентов, которым выполнено 585 ИВВ. Во всех случаях проводили забор внутриглазной жидкости из передней камеры и при наличии активной формы ЦМВР проводили ИВВ противовирусного препарата согласно новой классификации этого заболевания [13]. Оценка боли происходила ретроспективно по бинарному принципу (была или нет) на основании ретроспективно собранных данных из электронной истории болезни по назначению анальгетиков после манипуляции.

Оценка других осложнений

В данной части исследования все осложнения рассматривались отдельно по каждому глазу на основании результата осмотра до и после манипуляции. Таким образом, в анализ вошли данные, полученные в результате 1174 исследований. На основании данных офтальмоскопии переднего и заднего отрезков глаза фиксировались следующие осложнения предыдущего визита: 1) кровоизлияние, 2) кровотечение, 3) эндофтальмит, 4) иридоциклит, 5) гемофтальм, 6) гифема, 7) отслойка сетчатки, 8) катаракта, 9) кристаллизация ганцикловира, 10) эрозия роговицы.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка боли после интравитреального введения с забором внутриглазной жидкости

Из 585 визитов в 268 (46%) случаях пациенты получали ИВВ противовирусного препарата в оба

глаза, в 160 (27%) – в один глаз, 157 (27%) визитов были без ИВВ – только забор жидкости из передней камеры. Из 585 визитов в 414 (71%) случаях потребовался прием обезболивающих препаратов. Из 48 пациентов медикаментозное системное обезболивание потребовалось хотя бы однократно 43 пациентам. У 5 пациентов, которые не жаловались на боль, после забора внутриглазной жидкости 3 не получали ИВВ.

На *рисунке 1* представлено распределение болевых ощущений в зависимости от того, проводилось ли ИВВ в один глаз, в оба или вообще не проводилось.

На *рисунке 2* приведено распределение болевых ощущений: проводилось ли ИВВ ганцикловира в концентрации 1–2 мг/0,1 мл, 4–8 мг/0,1 мл, фоскарнета в стандартной концентрации или ИВВ вообще не проводилось.

На *рисунке 3* отражено распределение болевых ощущений в зависимости от кумулятивной частоты ИВВ в рамках одного эпизода.

Оценка других осложнений после интравитреальных введений с забором внутриглазной жидкости

Описательная статистика не связанных с болью осложнений представлена в *таблице*.

Среди всех изученных осложнений кроме боли наиболее частыми оказались геморрагические проявления, которые в настоящей работе разделены на субконъюнктивальные кровоизлияния и кровотечения в зависимости от степени выраженности.

На *рисунке 4* продемонстрирована встречаемость геморрагических осложнений в зависимости от того, проводилось ИВВ противовирусных препаратов или нет, на *рисунке 5* – в зависимости от вида препаратов и их концентрации.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

При анализе безопасности ИВВ противовирусных препаратов у детей-реципиентов ГСК, у которых в посттрансплантационном периоде развился ЦМВР, показано, что наиболее распространенными осложнениями были боль и субконъюнктивальное кровоизлияние.

Обращает на себя внимание распространенность болевых осложнений при том, что во взрослой офтальмологической практике болезненность после ИВВ не является настолько выраженной. При анализе полученных в настоящем исследовании результатов обращает на себя внимание отсутствие статистически значимых различий в частоте встречаемости болевых ощущений в зависимости от того, проводили ИВВ в один или в два глаза, а также в зависимости от

Рисунок 1
Болевые ощущения в зависимости от одностороннего или двухстороннего ИВВ

Figure 1
Pain sensations depending on the type of intravitreal injection (IVI) (unilateral/bilateral)

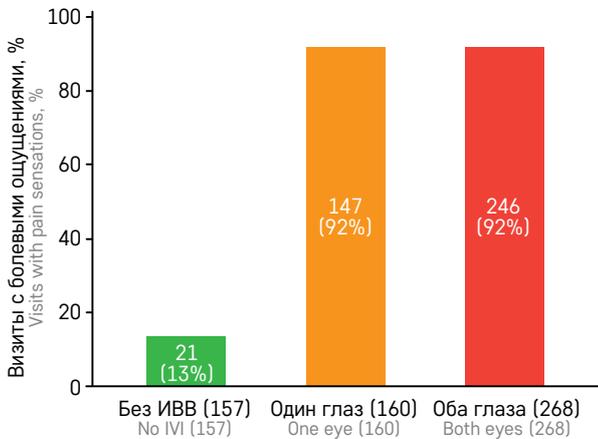


Рисунок 2
Болевые ощущения в зависимости от препарата для ИВВ и его концентрации

Figure 2
Pain sensations depending on the IVI drug and its concentration

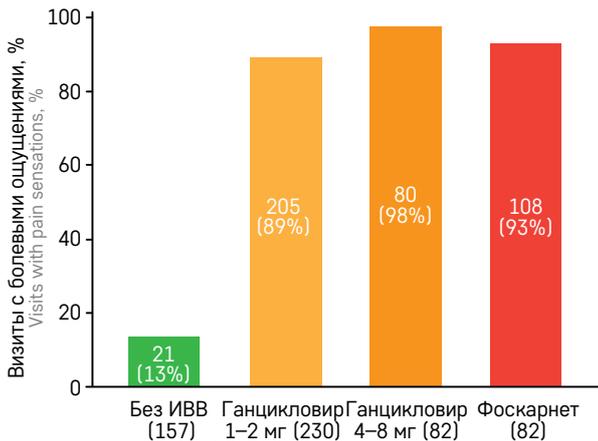
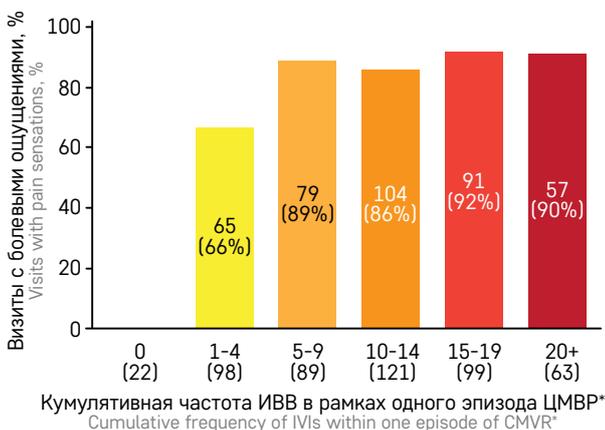


Рисунок 3
Болевые ощущения в зависимости от кумулятивной частоты ИВВ в рамках одного эпизода ЦМВР

Figure 3
Pain sensations depending on the cumulative frequency of IVIs within one episode of cytomegalovirus retinitis (CMVR)



* – сумма кумулятивных частот к данному визиту по обоим глазам
* – the sum of cumulative frequencies by the time of the visit (for both eyes)

Таблица
Описательная статистика неболевых осложнений

Table
Descriptive statistics for non-pain complications

Осложнение Complication	Без ИВВ (n = 478), n (%) No IVI (n = 478), n (%)	ИВВ (n = 696), n (%) IVI was performed (n = 696), n (%)	Все (n = 1174), n (%) All (n = 1174), n (%)
Субконъюнктивальное кровотечение Subconjunctival bleeding	2 (0,4)	18 (2,6)	20 (1,7)
Субконъюнктивальное кровоизлияние Subconjunctival hemorrhage	21 (4,4)	114 (16)	135 (11)
Эндофтальмит Endophthalmitis	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Иридоциклит Iridocyclitis	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Гемофтальм Hemophthalmos	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Гифема Hyphema	0 (0)	2 (0,3)	2 (0,2)
Отслойка сетчатки Retinal detachment	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Катаракта Cataract	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Кристаллизация ганцикловира Crystallization of ganciclovir	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Эрозия роговицы Corneal erosion	7 (1,5)	9 (1,3)	16 (1,4)

вводимого препарата и дозы ганцикловира. При этом очевидна значительная разница в частоте развития болевых ощущений в зависимости от того, проводилось ли ИВВ. Боль в послеоперационном периоде после ИВВ с забором водянистой влаги составила 92% и 13% при отдельном заборе водянистой влаги. При определении уровня значимости при помощи теста хи-квадрат полученные результаты представляются статистически достоверными ($p < 0,001$). Необходимо отдельно подчеркнуть, что сбор данных выполнялся ретроспективно по сведениям о проведении медикаментозного обезболивания в историях болезни, но при этом наличие такой выраженной и статистически значимой разницы, определенной по анализу 585 визитов, дает уверенность в том, что болевые ощущения связаны именно с самим фактом ИВВ, а не с забором жидкости из передней камеры или иными манипуляциями.

Обращает на себя внимание определенная тенденция к увеличению частоты болевых ощущений с увеличением количества ИВВ, перенесенных в процессе лечения одного эпизода ЦМВР. В настоящем исследовании недостаточно данных для того, чтобы достоверно определить причину данного явления, потому что параллельно с лечением вирусного ретинекроза все пациенты, включенные в исследование, находились на посттрансплантационной терапии, включающей в себя множество препаратов, потенциально способных повлиять на индивидуальное восприятие интенсивности боли.

Рисунок 4
Геморрагические осложнения в зависимости от того, проводилось ли ИВВ

Figure 4
Hemorrhagic complications depending on whether an IVI was performed

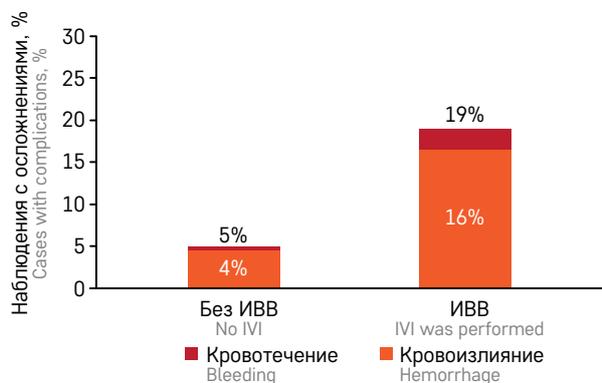
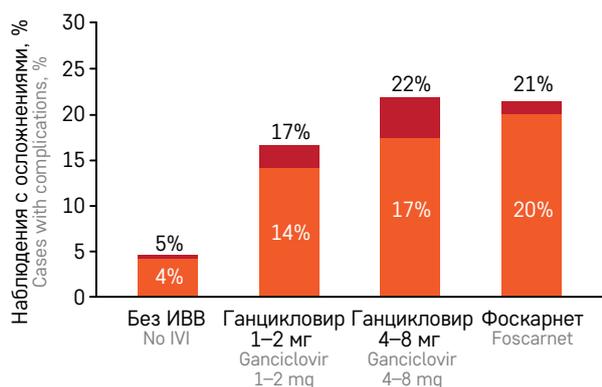


Рисунок 5
Геморрагические осложнения в зависимости от концентрации и вида противовирусных препаратов, вводимых интравитреально

Figure 5
Hemorrhagic complications depending on the concentration and type of antiviral drugs administered intravitreally



Основываясь на представленных результатах, можно утверждать, что ИВВ ганцикловира и/или фоскарнета у детей в периоде после трансплантации ГСК является болезненной манипуляцией.

При анализе геморрагических осложнений, так же как и для боли, обращает на себя внимание выраженная зависимость частоты их развития от факта проведения ИВВ. Эта закономерность, очевидно, объясняется тем, что сам процесс введения лекарственных препаратов в стекловидное тело подразумевает проведение иглы через конъюнктиву, склеру и цилиарное тело. Все эти ткани содержат сосуды и, соответственно, кровотечение при этой манипуляции более вероятно, чем только при заборе внутриглазной жидкости через роговицу, которая сосудов не содержит. Принимая во внимание приведенные выше данные о том, что геморрагические осложнения наблюдались в 18,6% выполненных ИВВ и в 4,8% проведенных заборов водянистой влаги без ИВВ

с учетом результатов теста хи-квадрат ($p < 0,001$), можно сделать утверждение о взаимосвязи субконъюнктивальных геморрагий с ИВВ противовирусных препаратов.

При оценке различий в зависимости от вида противовирусного препарата и концентрации ганцикловира p -value теста хи-квадрат получается $< 0,001$, при этом между группами наблюдений с разной дозой ганцикловира нет статистически значимых различий по частоте и кровоизлияний, и кровотечений.

Помимо болевых и геморрагических осложнений в результате анализа 1174 визитов были определены гифема (2 пациента, 0,2% наблюдений) и эрозия роговицы (16 пациентов, 1,4% наблюдений). Все пациенты с этими осложнениями полностью выздоровели в течение 2 нед. В обоих клинических случаях гифемы рассосались в течение первых суток после манипуляции. Во всех клинических случаях эрозии роговицы пациентам назначалась мазь декспантенол 4 раза/день в течение 5 дней. Во всех случаях наблюдалась полная эпителизация роговицы.

Остальные включенные в работу на основании данных литературы осложнения (эндофтальмит, иридоциклит, гемофтальм, отслойка сетчатки, катаракта и кристаллизация ганцикловира) в результате 1174 визитов встречены не были.

Основываясь на результатах проведенного анализа осложнений ИВВ противовирусных препаратов с забором внутриглазной жидкости, можно сделать вывод, что данная методика лечения ЦМВР является безопасной и не приводит к развитию заболеваний, способных привести к необратимой потере зрения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. ИВВ противовирусных препаратов у детей в периоде после трансплантации ГСК является болезненной манипуляцией.

2. Серийные ИВВ противовирусных препаратов с забором внутриглазной жидкости у детей-реципиентов ГСК являются безопасным методом лечения ЦМВР.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Pershin B.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6481-8608>

Smirnova A.B. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3585-7595>

Mironenko O.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8952-8386>

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

Литература / References

1. Mizushima D., Nishijima T., Gatanaga H., Tsukada K., Teruya K., Kikuchi Y., Oka S. Preemptive therapy prevents cytomegalovirus end-organ disease in treatment-naïve patients with advanced HIV-1 infection in the HAART era. *PLoS One* 2013; 8 (5): e65348. DOI: 10.1371/journal.pone.0065348
2. Ariza-Heredia E.J., Neshet L., Chermaly R.F. Cytomegalovirus diseases after hematopoietic stem cell transplantation: a mini-review. *Cancer Lett* 2014; 342 (1): 1–8. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.09.004
3. Kotton C.N., Kumar D., Caliendo A.M., Asberg A., Chou S., Danziger-Isakov L., Humar A. Transplantation Society International CMV Consensus Group. Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation* 2013; 96 (4): 333–60. DOI: 10.1097/TP.0b013e31829df29d
4. Lazzarotto T., Gabrielli L., Lanari M., Guerra B., Bellucci T., Sassi M., Landini M.P. Congenital cytomegalovirus infection: recent advances in the diagnosis of maternal infection. *Hum Immunol* 2004; 65 (5): 410–5. DOI: 10.1016/j.humimm.2004.02.006
5. Guex-Crosier Y., Telenti A. An epidemic of blindness: a consequence of improved HIV care? *Bull World Health Organ* 2001; 79 (3): 181.
6. Heiden D., Saranchuk P. CMV retinitis in China and SE Asia: the way forward. *BMC Infect Dis* 2011; 11: 327. DOI: 10.1186/1471-2334-11-327
7. Miao H., Tao Y., Jiang Y.R., Li X.X. Multiple intravitreal injections of ganciclovir for cytomegalovirus retinitis after stem-cell transplantation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013; 251 (7): 1829–33. DOI: 10.1007/s00417-013-2368-6
8. Першин Б.С., Смирнова А.Б. Сравнение эффективности серии интравитреальных инъекций противовирусных препаратов в лечении цитомегаловирусного ретинита при помощи полимеразной цепной реакции и при офтальмоскопическом контроле. *Современные технологии в офтальмологии* 2023; 1: 338–42. DOI: 10.25276/2312-4911-2023-1-338-342 [Pershin B.S., Smirnova A.B. Comparison of the effectiveness of a series of intravitreal injections of antiviral drugs in the treatment of cytomegalovirus retinitis under control using aqueous humor polymerase chain reaction and under ophthalmoscopic control. *Modern Technologies in Ophthalmology* 2023; 1: 338–42. (In Russ.)].
9. Першин Б.С., Масчан А.А., Смирнова А.Б., Мироненко О.Н. Классификация цитомегаловирусного ретинита, основанная на результатах полимеразной цепной реакции внутриглазной жидкости. *Российская детская офтальмология* 2024; 45 (1): 5–11. [Pershin B.S., Maschan A.A., Smirnova A.B., Mironenko O.N. Classification of cytomegalovirus retinitis based on the results of polymerase chain reaction of intraocular fluid. *Russian pediatric ophthalmology* 2024; 45 (1): 5–11. (In Russ.)].
10. Miller A., Wilneff M.A., Yazji A., Petrinec E., Carbone M., Miller C., et al. Analysis of urgent follow up visits and complications after intravitreal injections: a retrospective cohort study. *Int J Retina Vitreous* 2022; 8 (1): 8. DOI: 10.1186/s40942-021-00358-w
11. Ramos M.S., Xu L.T., Singuri S., Castillo Tafur J.C., Arepalli S., Ehlers J.P., et al. Patient-Reported Complications after Intravitreal Injection and Their Predictive Factors. *Ophthalmol Retina* 2021; 5 (7): 625–32. DOI: 10.1016/j.oret.2020.09.024
12. Jamroz-Witkowska A., Kowalska K., Jankowska-Lech I., Terelak-Borys B., Nowosielska A., Grabska-Liberek I. Powikłania po iniekcjach do komory ciała szklistego – doświadczenia własne. *Klin Oczna* 2011; 113 (4–6): 127–31. [Jamroz-Witkowska A., Kowalska K., Jankowska-Lech I., Terelak-Borys B., Nowosielska A., Grabska-Liberek I. Complications of intravitreal injections – own experience. *Klin Oczna* 2011; 113 (4–6): 127–31. (In Polish)].
13. Ussery F.M. 3rd, Gibson S.R., Conklin R.H., Piot D.F., Stool E.W., Conklin A.J. Intravitreal ganciclovir in the treatment of AIDS-associated cytomegalovirus retinitis. *Ophthalmology* 1988; 95 (5): 640–8. DOI: 10.1016/s0161-6420(88)33147-7
14. Lu L.P.L., Fan M.C.Y., Lam W.C., Wong I.Y.H. Repeated intraocular crystallization of ganciclovir in one eye after bilateral intravitreal injections: a case report. *BMC Ophthalmol* 2018; 18 (1): 36. DOI: 10.1186/s12886-018-0703-8

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 13.09.2024
Принята к печати 18.10.2024



EDN: FNZICZ

Контактная информация:

Артеменко Елена Олеговна,
научный сотрудник лаборатории
клеточного гемостаза и тромбоза
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: lartemenko@yandex.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-54-57

Анализ функции ингибирования тромбоцитов по фосфорилированию внутриклеточного цитоскелетного белка VASP в цельной крови во времени

Е.О. Артеменко^{1,2}, И.А. Чабин², М.А. Пантелеев¹⁻³

¹ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН, Москва

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

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

Состояние тромбоцитов может зависеть от времени, прошедшего с момента забора крови, в первую очередь из-за наличия в циркуляции короткоживущих ингибиторов их активации. В данной работе проанализировано фосфорилирование белка VASP (vasodilator-stimulated phosphoprotein), которое коррелирует с функцией ингибирования тромбоцитов в зависимости от времени с помощью проточной цитометрии. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Мы исследовали фосфорилирование VASP тромбоцитов в цельной крови сразу после ее взятия из вены и через 60 мин. В качестве положительного контроля нами использовано ингибирование функции тромбоцитов с помощью простагландина E1. В результате мы выяснили, что фосфорилирование VASP в тромбоцитах не отличалось достоверно в цельной крови сразу после ее взятия и через 60 мин, в то время как наблюдалось заметное его увеличение при ингибировании тромбоцитов с помощью простагландина E1. Полученные данные предполагают, что состояние тромбоцитов не изменяется заметным образом в течение 60 мин после взятия крови из вены.

Ключевые слова: гемостаз, тромбоциты, VASP, проточная цитометрия

Артеменко Е.О. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 54–7. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-54-57

Analysis of platelet inhibition function by measuring phosphorylation of the intracellular cytoskeleton protein VASP in whole blood over time

E.O. Artemenko^{1,2}, I.A. Chabin², M.A. Panteleev¹⁻³

¹Center for Theoretical Problems of Physical and Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow

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

³The M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow

The state of platelets may depend on the time since blood draw, primarily because of the presence of short-lived inhibitors of platelet activation in circulation. In this work, we analyzed the phosphorylation of vasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP), which correlates with platelet inhibition, over time using flow cytometry. 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 investigated VASP phosphorylation in platelets in whole blood immediately after the blood was collected and 60 minutes later. As a positive control, we used platelet function inhibition by prostaglandin E1. As a result, it was found that the level of VASP phosphorylation in platelets in whole blood did not differ significantly in samples taken immediately after the blood draw and 60 minutes later, however it was markedly increased with platelet inhibition by prostaglandin E1. Our results suggest that the state of platelets does not change significantly within 60 minutes after the blood draw.

Key words: hemostasis, platelets, VASP, flow cytometry

Artemenko E.O., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 54–7. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-54-57

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 13.09.2024

Accepted 18.10.2024

Correspondence:

Elena O. Artemenko,
a researcher at the Laboratory
of Cellular Hemostasis and Thrombosis
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: lartemenko@yandex.ru

Активация тромбоцитов в кровотоке регулируется широким спектром агонистов, что может приводить к самым разным ответам тромбоцитов [1, 2], в том числе и к формированию их прокоагулянтной субпопуляции, которая экспонирует на своей внешней мембране липид фосфатидилсерин, который детектируется с помощью либо аннексина V [3], либо лактадгерина [4]. Способность тромбоцитов к активации в кровотоке может быть

подавлена с помощью различных простагландинов [5] и оксида азота (II) (NO), который вырабатывается в основном эндотелиальными клетками, выстилающими стенки сосудов [6]. На сегодняшний день один из внутриклеточных цитоскелетных белков тромбоцитов VASP (vasodilator-stimulated phosphoprotein), который ассоциирован с интегринами, рассматривают в качестве одного из основных маркерных белков ингибирования функции тромбоцитов, поскольку

повышение его фосфорилирования коррелирует с ингибированием связывания растворимого фибриногена с интегрином $\alpha_{IIb}\beta_3$ и ингибированием агрегации тромбоцитов [7]. VASP имеет 3 различных сайта фосфорилирования, которые фосфорилируются как сGMP-, так и сAMP-зависимыми протеинкиназами, однако каждая киназа проявляет предпочтительность для разных сайтов фосфорилирования [8], есть также данные о фосфорилировании VASP по Ser157 с помощью протеинкиназы C [9]. Антитела к фосфорилированной форме Ser239 VASP были описаны ранее для анализа заингибированного (с помощью простагландин E1 (ПГЕ1) или доноров NO) состояния тромбоцитов [10]. Вопрос о том, насколько исследования тромбоцитов *in vitro* отражают их свойства *in vivo*, до сих пор остается дискуссионным.

В данной работе мы исследовали состояние тромбоцитов с помощью анализа фосфорилирования VASP по Ser239 и показали, что состояние тромбоцитов, напрямую зафиксированных из венозного кровотока, не отличается заметным образом от состояния тромбоцитов в крови, которая была выдержана при комнатной температуре в течение 60 мин после ее забора. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Забор, фиксация и пермеабилзация крови

Для наименьшего воздействия на тромбоциты непосредственно процессом забора кровь забирали самотеком в свежеприготовленный 1% раствор формалина в буфере А, pH 7,4 (150 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 1 мМ MgCl₂, 0,4 мМ NaH₂PO₄, 20 мМ HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота), 5 мМ глюкозы). Набирали 0,5 мл крови в 4,5 мл 1% раствора формалина, таким образом при заборе кровь разбавлялась в 10 раз. Контрольную кровь также забирали самотеком в 110 мМ цитрата натрия, pH 5,5 в соотношении кровь:цитрат – 9:1. Кровь, которую забирали на цитрат, выдерживали при комнатной температуре в течение 60 мин и затем фиксировали в 1% растворе формалина в буфере А, pH 7,4, при этом кровь разбавлялась в 10 раз. В качестве положительного контроля использовали ингибирование функции тромбоцитов с помощью ПГЕ1: к 100 мкл крови добавляли ПГЕ1 до 5 мкМ из 1 мМ стока в этаноле и инкубировали 3 мин, затем кровь фиксировали в 1% растворе формалина в буфере А, pH 7,4, при этом кровь разбавлялась в 10 раз. Время фиксации крови составляло 30 мин. После этого фиксированные клетки пермеабилizовывали добавлением 0,3% раствора тритона X-100 в буфере А,

pH 7,4 до конечной концентрации тритона 0,2%, пермеабилзацию проводили в течение 30 мин. Далее реакцию сшивки формалином останавливали добавлением 50 мМ раствора глицина в буфере А с 5 мг/мл бычьего сывороточного альбумина (БСА), pH 7,4 и инкубировали с ним при перемешивании 30 мин, затем фиксированные клетки хранили при +4°C в течение 16–20 ч.

Окраска фиксированных клеток антителами

Фиксированные и пермеабилizованные клетки центрифугировали при 2000g в течение 10 мин и затем окрашивали добавлением буфера А с БСА, pH 7,4 с антителами к интегину $\alpha_{IIb}\beta_3$ конъюгированных с фикоэритрином CD61-PE (конечная концентрация 0,5%, Becton Dickinson, США) и первичных кроличьих антител к фосфорилированной форме VASP (по Ser239, Affinity Biosciences, КНР), при этом конечная концентрация этих антител в буфере А составляла 10 мкг/мл. Антитела инкубировали с клетками при постоянном перемешивании в течение 1,5 ч. Затем клетки отмывали добавлением 10-кратного объема буфера А, pH 7,4, после этого их осаждали центрифугированием при 2000g в течение 10 мин и далее окрашивали добавлением вторичных меченных Алексой Флуор-488 антител (антикроличьи антитела, Affinity Biosciences, КНР), при этом конечная концентрация антител в буфере А, pH 7,4 составляла 2 мкг/мл. Антитела инкубировали с клетками при постоянном перемешивании в течение 30 мин. Затем окрашенные клетки разбавляли буфером А с БСА, pH 7,4 в 10 раз и инкубировали при постоянном перемешивании 30 мин.

Проточная цитометрия

Далее пробы сразу же измеряли на цитометре Novocyte (ACEA Biosciences, США) при медленной скорости потока, при этом собирали не менее 2000 событий, попадающих в регион тромбоцитов, которые отделяли по их окрашиванию с помощью CD61-PE.

Статистика

Результаты представлены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение. Для сравнения выборок использовали критерий Манна–Уитни, отличие считали достоверным при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами проанализировано фосфорилирование цитоскелетного белка VASP в тромбоцитах с помощью иммунофлуоресцентного анализа фосфорилированного состояния Ser239 в белке VASP по ранее предложенной Schwarz и соавт. методике [11].

Мы немного модифицировали эту методику – добавили раствор глицина в буфере А к фиксированной крови для остановки реакции сшивки формалином и предотвращения неспецифической пришивки антител в результате просто химической реакции, а не аффинного связывания.

Мы не зарегистрировали заметного изменения фосфорилирования VASP в цельной крови, забранной напрямую самотеком в формалин, и в цельной крови, забранной на цитрат, которая находилась при комнатной температуре в течение 60 мин (рисунк, А). При этом мы наблюдали заметное различие между кровью, простоявшей 60 мин, и той же кровью, в которую был добавлен ПГЕ1 (рисунк, Б), это позволяет говорить о том, что заингибированное состояние тромбоцитов мы действительно регистрируем.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данной работе мы показали, что фосфорилирование цитоскелетного белка VASP заметным образом не отличается в крови, которую набирали сразу в фиксирующий раствор, и в крови, выдержанной при комнатной температуре в течение 60 мин.

Анализ фосфорилирования цитоскелетного белка VASP является одним из нескольких предложенных на сегодняшний день подходов для мониторинга состояния тромбоцитов [12]. Этот подход

сейчас широко используется даже для анализа состояния тромбоцитов пациентов [13] и позволяет эффективно отслеживать терапию антагонистами P2Y₁₂ [14, 15]. Однако состояние VASP в тромбоцитах крови по времени, прошедшему от момента ее забора, оставалось неисследованным.

Фосфорилирование цитоскелетного белка VASP является чувствительным к антитромбоцитарной терапии [16] и даже было предложено в качестве одного из способов детекции в крови количества NO [17], однако поскольку в крови всегда присутствует сложная смесь активаторов и ингибиторов тромбоцитов, то состояние тромбоцитов остается непонятным.

В своих экспериментах по исследованию роста тромба в проточных камерах мы наблюдали заметное изменение свойств крови в зависимости от времени, прошедшего от ее забора, в частности заметное увеличение размера растущих тромбов в зависимости от момента забора крови (Троянова, Нечипуренко, Пантелеев, неопубликованные данные). Мы предположили, что такой эффект может быть связан с постепенным изменением состояния тромбоцитов в крови и, возможно, с утратой ими заингибированного состояния, в котором они, возможно, существуют в кровотоке благодаря присутствию ингибиторов тромбоцитов, таких как различные типы простагландинов, простаглицлинов и NO.

Рисунок

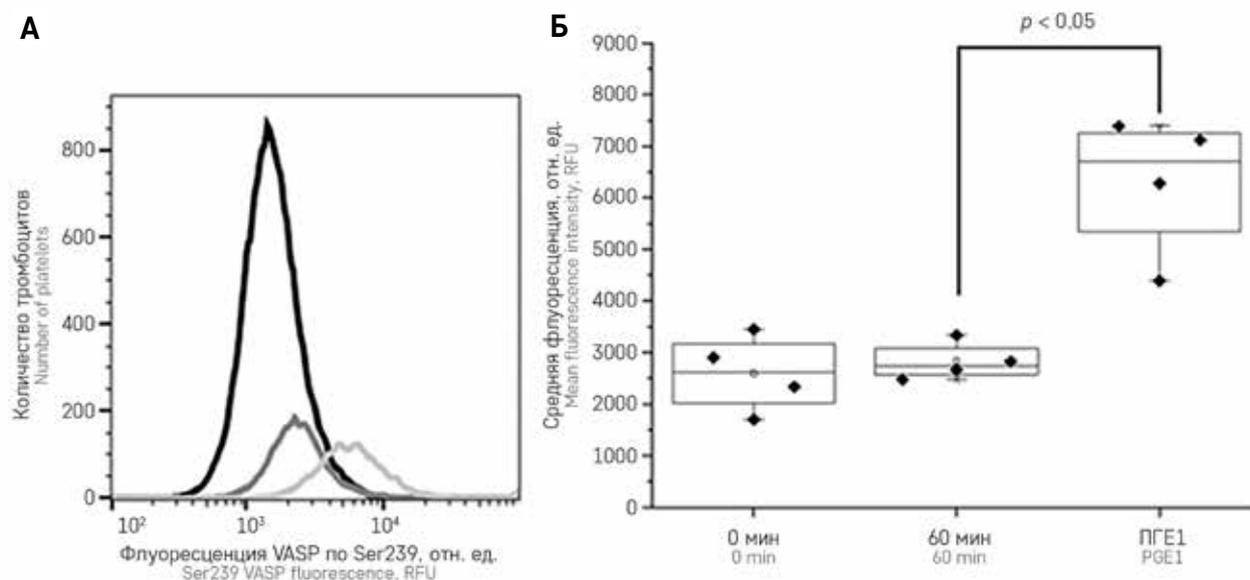
Анализ фосфорилирования цитоскелетного белка VASP по Ser239 в зависимости от времени от момента забора крови

В качестве положительного контроля использовано ингибирование тромбоцитов с помощью ПГЕ1. А – приведены типичные гистограммы флуоресценции для 1 донора. Черный цвет – гистограмма для времени 0 мин, темно-серый цвет – гистограмма для времени 60 мин; светло-серый цвет – гистограмма для ингибирования с ПГЕ1; Б – приведены усредненные значения флуоресценции фосфорилированной формы VASP для Ser239 для 4 доноров

Figure

An analysis of phosphorylation of the cytoskeleton protein VASP at Ser239 by time since blood draw

As a positive control, platelet function inhibition by prostaglandin E1 (PGE1) was used. A – typical fluorescence histograms for 1 donor. The black histogram is for the timepoint "0 min", the dark grey histogram is for the timepoint "60 min"; the light grey histogram is for inhibition with PGE1; Б – mean fluorescence intensity values of phosphorylated VASP for Ser239 for 4 donors



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе показано, что в условиях нашего эксперимента фосфорилирование цитоскелетного белка VASP не изменялось заметным образом в течение 60 мин после взятия крови, в то время как мы наблюдали заметное воздействие ПГЕ1 на детектируемое фосфорилирование VASP (рисунок). Полученные нами данные предполагают, что в пределах исследованного времени состояние тромбоцитов заметным образом не изменяется по анализу фосфорилирования цитоскелетного белка VASP, которое

обычно коррелирует с функцией ингибирования тромбоцитов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом Российского научного фонда №23-44-00082.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Artemenko E.O. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0193-0723>

Chabin I.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0625-1743>

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

Литература / References

1. Свешникова А.Н., Степанян М.Г., Пантелеев М.А. Функциональные ответы тромбоцитов и внутриклеточная сигнализация: молекулярные связи. Часть 1: ответы. Системная биология и физиология 2022; 1 (1): 14–23. [Sveshnikova A.N., Stepanyan M.G., Panteleev M.A. Platelet functional responses and signalling: the molecular relationship. Part 1: responses. Part 1: answers. Systems Biology and Physiology Reports 2022; 1 (1): 14–23. (In Russ.)].
2. Кадыров Т.И., Свешникова А.Н., Пантелеев М.А. Репарация плазматической мембраны, блябинг и микровезикуляция: параллели и взаимосвязи. Системная биология и физиология 2022; 1 (2): 13–20. [Kadyrov T.I., Sveshnikova A.N., Panteleev M.A. Plasma membrane repair, blebbing and microvesiculation: parallels and relationships. Systems Biology and Physiology Reports 2022; 1 (2): 13–20. (In Russ.)].
3. Коваленко Т.А. Аннексин V: связывающийся с мембраной белок с широчайшим набором функций. Системная биология и физиология 2022; 1 (2): 21–33. [Kovalenko T.A. Annexin V: the membrane-binding protein with diverse functions. Systems Biology and Physiology Reports 2022; 1 (2): 21–33. (In Russ.)].
4. Обыденный С.И. Преимущество применения лактадгерина для оценки экспонирования фосфатидилсерина в тромбоцитах. Системная биология и физиология 2023; 2 (1): 11–3. [Obydennyi S.I. An advantage of lactadgerin in the assessment of phosphatidylserine exposure in platelets. Systems Biology and Physiology Reports 2023; 2 (1): 11–3. (In Russ.)].
5. Braune S., Küpper J.H., Jung F. Effect of Prostanoids on Human Platelet Function: An Overview. Int J Mol Sci 2020; 21 (23): 9020. DOI: 10.3390/ijms21239020
6. Broos K., Feys H.B., De Meyer S.F., Vanhoorelbeke K., Deckmyn H. Platelets at work in primary hemostasis. Blood Rev 2011; 25 (4): 155–67. DOI: 10.1016/j.blre.2011.03.002
7. Horstrup K., Jablonka B., Hönig-Liedl P., Just M., Kochsiek K., Walter U. Phosphorylation of focal adhesion vasodilator-stimulated phosphoprotein at Ser157 in intact human platelets correlates with fibrinogen receptor inhibition. Eur J Biochem 1994; 225: 21–7.
8. Butt E., Abel K., Krieger M., Palm D., Hoppe V., Hoppe J., et al. cAMP- and cGMP-dependent protein kinase phosphorylation sites of the focal adhesion vasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP) *in vitro* and in intact human platelets. J Biol Chem 1994; 269 (20): 14509–17.
9. Chitaley K., Chen L., Galler A., Walter U., Daum G., Clowes A.W. Vasodilator-stimulated phosphoprotein is a substrate for protein kinase C. FEBS Lett 2004; 556: 211–5. DOI: 10.1016/S0014-5793(03)01435-2
10. Smolenski A., Bachmann C., Reinhard K., Hönig-Liedl P., Jarchau T., Hoschuetzky H., et al. Analysis and regulation of vasodilator-stimulated phosphoprotein serine 239 phosphorylation *in vitro* and in intact cells using a phosphospecific monoclonal antibody. J Biol Chem 1998; 273 (32): 20029–35. DOI: 10.1074/jbc.273.32.20029
11. Schwarz U.R., Geiger J., Walter U., Eigenthaler M. Flow cytometry analysis of intracellular VASP phosphorylation for the assessment of activating and inhibitory signal transduction pathways in human platelets – definition and detection of ticlopidine/clopidogrel effects. Thromb Haemost 1999; 82 (3): 1145–52.
12. Algahtani M., Heptinstall S. Novel strategies for assessing platelet reactivity. Future Cardiol 2017; 13 (1): 33–47. DOI: 10.2217/fca-2016-0054
13. Mallouk N., Varvat J., Berger A., Epinat M., Accassat S., Garcin A., et al. Assessment of a flow cytometry technique for studying signaling pathways in platelets: Monitoring of VASP phosphorylation in clinical samples. Pract Lab Med 2018; 11: 10–8. DOI: 10.1016/j.plabm.2018.02.002
14. Jakubowski J.A., Payne C.D., Li Y.G., Farid N.A., Brandt J.T., Small D.S., et al. A comparison of the antiplatelet effects of prasugrel and high-dose clopidogrel as assessed by VASP-phosphorylation and light transmission aggregometry. Thromb Haemost 2008; 99 (1): 215–22. DOI: 10.1160/TH07-09-0555
15. Glenn J.R., Dovlatova N., White A.E., Dhillon K., Heptinstall S., Fox S.C. 'VASPFix' for measurement of VASP phosphorylation in platelets and for monitoring effects of P2Y12 antagonists. Thromb Haemost 2014; 111 (3): 539–48. DOI: 10.1160/TH13-07-0581
16. Sudo T., Ito H., Kimura Y. Phosphorylation of the vasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP) by the anti-platelet drug, cilostazol, in platelets. Platelets 2003; 14 (6): 381–90. DOI: 10.1080/09537100310001598819
17. Srihirun S., Schechter A.N., Piknova B. Platelet-based Detection of Nitric Oxide in Blood by Measuring VASP Phosphorylation. J Vis Exp 2019; (143): 10.3791/58647. DOI: 10.3791/58647

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 06.11.2023

Accepted 15.10.2024



EDN: FPYTXM

Correspondence:

Dr. Bijan Keikhaei

Address: Golestan Highway, Thalassemia and Hemoglobinopathy Research Center, Health Research Institute, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

Postal code: 6135715794

E-mail: keikhaeib@yahoo.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-58-61

The retrospective study of cost-effectiveness for prophylactic and on-demand treatment of the pediatric patients with hemophilia A in Iran

Tina Alidoust¹, Mohammad Bahadoram¹, Arash Alghasi¹, Mohammad-Reza Mahmoudian-Sani¹, Esma'il Akade¹, Hamid Nilsaz-Dezfouli², Bijan Keikhaei¹

¹Thalassemia and Hemoglobinopathy Research Center, Health Research Institute, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

²Department of industrial Engineering, Mahshahr Branch, Islamic Azad University, Mahshahr, Iran

Hemophilia is the second most common inherited bleeding disorder after von Willebrand disease. Delayed clotting is usually observed in all main types of hemophilia caused by deficiencies in blood coagulation factors. Primary prophylaxis is considered the gold standard to prevent acute hemarthrosis and chronic arthropathy in patients with severe hemophilia A. However, some low-income countries, like Iran, have to prioritize access to preventive care to balance the financial resources and per capita access to coagulation factors. In order to compare the cost-effectiveness of on-demand and preventive treatment, we conducted a retrospective study on 55 patients with hemophilia A. We collected data from two groups of patients: those who had received routine prophylactic treatment and those who had received on-demand (episodic) treatment. The results of our study revealed a significant difference in the annualized bleeding rates (ABRs) between the two groups: ABR in the prophylactic treatment group was lower than in the on-demand treatment group (2.19 vs 7.25). In addition, we found substantial differences between the prophylactic and on-demand treatment groups in the number of hospital visits per year (9.8 vs 14.41), the annual number of infusions (107.35 vs 229.58), and in the mean cost of treatment (30.96€ vs 63€). In conclusion, prophylactic therapy seems to be more effective than on-demand treatment. This study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. The study was approved by the Ethics Committee of the Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran (IR.AJUMS.REC.1398.456). Written informed consent was obtained from the patients' parents.

Key words: hemophilia, prophylaxis, on-demand, bleeding, retrospective study

Alidoust T., et al. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2024; 23 (4): 58–61.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-58-61

Congenital hemorrhagic diseases are characterized by homeostasis dysfunction resulting in ineffective and abnormal formation of blood clots that may lead to prolonged or spontaneous bleeding [1]. Hemophilia is the second most common inherited bleeding disorder after von Willebrand disease. About 8200 people in Iran are diagnosed with hemophilia [2]. Deficiencies of blood coagulation factors cause delayed clot formation and are usually observed in all main types of hemophilia [3]. Type A hemophilia is caused by the deficiency of coagulation factor VIII (FVIII), while the lack of factor IX (FIX) leads to type B hemophilia. These disorders are characterized by recurrent episodes of bleeding, mainly in the joints and muscles [4]. In the long-term, repeated bleeding in the joints can damage cartilage and bones leading to chronic arthropathy and, eventually, disability [5].

Following the advent of replacement therapy with the missing clotting factors, the treatment and management of hemophilia have changed significantly. Life expectancy has increased from early adolescence to over 75 years due to improvements in healthcare services [6]. Treatment has also changed from the use of crude plasma preparations such as cryoprecipitate (in the 1960s) and high-purity and recombinant

concentrates (in the 1980s) to new extended half-life drugs. These agents have significantly reduced the burden of treatment on patients [7].

Hemophilia is usually treated with coagulation factor replacement therapy. Treatment options include prophylaxis (prevention of bleeding) and on-demand treatment (episodic treatment after the onset of bleeding) [8]. Prophylaxis is the preferred treatment option for patients with severe hemophilia (commonly defined as < 1% baseline coagulation factor activity level). It significantly decreases the total number of bleeding events and joint hemorrhages. Consequently, prophylactic treatment reduces the occurrence of hemophilia-induced arthropathy compared to on-demand treatment [9]. Magnetic resonance imaging of axial joints has shown that prophylactic treatment can prevent chronic microbleeds in the joints and hemarthrosis. Moreover, prophylactic therapy may be associated with fewer days of absence from work or school, improved physical health, pain relief, and higher health-related quality of life (QoL) scores (measured by general or hemophilia-specific questionnaires) [10]. Recent studies have also suggested that initiating prophylaxis as soon as possible (before the occurrence of joint bleeding) can be more effective

[5]. Early or primary prophylaxis is initiated before or shortly after the first hemorrhagic episode and within the second year of life, when joints might still be pristine. Secondary prophylaxis is referred to as preventive measures started later, because irreversible joint changes may occur even after a few bleeding episodes in the same joints [11]. According to the statements made by the World Health Organization and the World Federation of Hemophilia, initiation of prophylactic treatment at an early age is the best option for pediatric patients with severe hemophilia A [12]. However, there are still some limiting factors for patients undergoing prophylactic treatment. For example, conventional FVIII and FIX concentrates have a short half-life and are administered intravenously. Repeated injections and frequent visits are burdensome for patients [13–15], which can lead to reduced treatment compliance [16]. High rates of non-adherence to treatment, high expenses, and no access to medical products are among the major clinical challenges of managing hemophilia patients [13–15]. In addition, the development of inhibitors against FVIII or FIX (alloantibodies) counterbalances the activity of coagulation factors, inhibits alternative therapies, prevents patients from receiving long-term prophylaxis, increases the risks of mortality and morbidity, and consequently, decreases the QoL [13, 17, 18]. Prophylaxis with coagulation factor concentrates is currently the gold standard in the management of hemophilia patients. However, there have been concerns regarding expenses and poor access to prophylactic therapy (< 1 unit of factor concentrate per capita) that prevents some countries, such as Iran, from proper implementation of prophylactic treatment plans. Hence, the present study aimed to establish the best treatment options for patients with hemophilia A in terms of cost-effectiveness.

MATERIALS AND METHODS

This retrospective study is based on the archived records of 55 patients with hemophilia who were referred to the Baghai Hospital, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran, between 2015 and 2018. To meet the study objectives, the data were collected for two groups of patients. One group received routine prophylaxis ($n = 31$) and the other received on-demand therapy ($n = 24$). None of the studied patients abandoned treatment. The collected data included age at diagnosis, age at the initiation of treatment, annualized bleeding rate (ABR), a history of surgical treatment due to hemophilia, the amount of coagulation factors used per IU/kg/year, the duration of prophylaxis, and the cost treatment. The groups were matched by age, gender, and body mass index. All the included patients met the following criteria: age less

than 17 years old, the diagnosis of severe hemophilia A (FVIII < 1%), and the availability of at least one-year follow-up records. Patients with a history of inhibitory antibodies against FVIII and those who had missing information in their medical records were excluded. This study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. The study was approved by the Ethics Committee of the Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran (IR.AJUMS.REC.1398.456). Written informed consent was obtained from the patients' parents.

Statistical analysis

Descriptive analysis was used to describe the characteristics of the study participants. Percentage differences were further evaluated with the Chi-square or Fisher's exact test, as appropriate. In addition, the Mann-Whitney U test was utilized to compare differences between the two groups. We also applied the two-tailed significant test, and a p -value less than 0.05 was considered significant. All statistical analyses were carried out using the SPSS software (ver.16).

RESULTS

The mean age of the patients in the prophylaxis group was 10 years compared with 8 years for the on-demand group. However, we did not find any significant differences between the groups when matched by age. There was a significant difference in ABR between the two groups. In addition, those children who received prophylaxis had lower bleeding rates. Moreover, the annual number of infusions was significantly lower in the children undergoing prophylactic treatment ($p < 0.001$). Fewer infusions in the prophylaxis group lead to fewer hospital referrals and decreased expenses compared to the on-demand therapy group. These results are detailed in *table*.

About 75% of the patients in the on-demand group had a history of surgery compared to 25% in the prophylaxis group (*figure*). The chi-square test showed a significant association between the type of treatment and a history of surgery ($p < 0.05$).

DISCUSSION

Until 2014, the treatment of choice for all age groups with hemophilia in Iran was on-demand therapy. At present, prophylactic treatment is divided into three priority groups:

- 1) start of prophylactic treatment after the first bleeding episode confirmed by radiological examination and before the second episode of bleeding in large joints for patients under 3 years old;

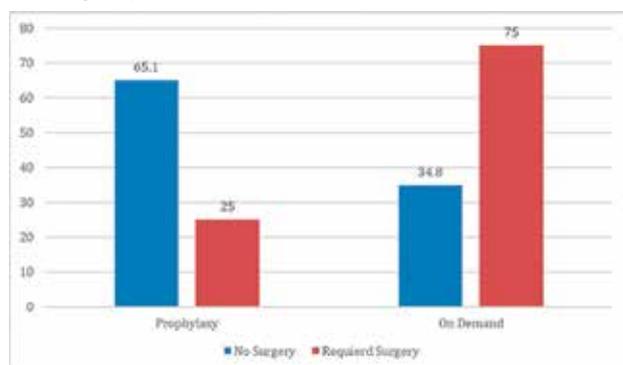
Table

The demographic and clinical characteristics of the patients, coagulation factor use, clinical outcomes, and expenses in the on-demand and prophylactic treatment groups

Variables	On-demand therapy	Prophylactic therapy	p-value
Age (mean ± SD), years	10.58 ± 3.36	8.35 ± 3.33	0.1
Age at diagnosis (mean ± SD), months	23.25 ± 22.64	11.32 ± 9.87	–
Age at treatment initiation (mean ± SD), months	28.04 ± 22.94	32.19 ± 34.34	–
Sex (male:female)	20:4	28:3	0.078
Body mass index, kg/cm ²	21.54 ± 3.05	19.61 ± 3.36	0.3
ABR (mean ± SD)	7.25 ± 2.52	2.19 ± 0.98	< 0.001
Number of hospital visits per year (mean ± SD)	14.41 ± 3.82	9.80 ± 2.480	0.001
Number of prophylaxis use per year (mean ± SD)	–	5.58 ± 2.69	–
Number of injections per year (mean ± SD)	229.58 ± 41.12	107.35 ± 53.59	< 0.001
Number of injections per week (mean ± SD)	–	2.06 ± 1.03	–
Expenses (mean ± SD), €	63.000 ± 10.30	30.96 ± 13.84	0.001

Figure

A comparison of surgical treatment between the study groups



2) start of prophylactic treatment after the second episode of bleeding in large joints confirmed by radiological examination;

3) start of prophylactic treatment after clinical evidence of joint damage to stop progression.

This study aimed to compare prophylactic and on-demand treatment protocols in patients with hemophilia A. In addition, in these two groups we evaluated the following factors: the frequency of bleeding episodes per year, the rate of joint damage, the need for surgery, the number of infusions (coagulation factor), as well as the costs and benefits of prophylactic and on-demand treatment. The results of the study may help all who are involved in patient care, including patients, physicians, and funding agencies, to make better decisions.

In our study, the frequency of bleeding episodes in the prophylaxis group was significantly lower than in the on-demand treatment group. The annual bleeding

rates were 7.25 and 2.19 in the on-demand and prophylactic groups, respectively. In 2018, Nugent et al. assessed the value of prophylactic versus on-demand treatments. They measured ABR in 45 patients aged 1 to 7 years with severe hemophilia A and reported that mean annualized bleeding events per patient were 12 and 4 in the on-demand and prophylactic groups, respectively [7]. In another study, Tagliaferri et al. (2015) evaluated 53 patients aged between 12 to 55 years in the on-demand and prophylactic groups with severe hemophilia A. They reported that ABR in the prophylaxis group (~ 2.5) was lower than in the on-demand group (~ 16.7). Prophylaxis resulted in a reduction in bleeding episodes, and a consequent reduction in the frequency of hemarthrosis and arthropathy was predictable. In this study, 65% of the patients undergoing prophylactic therapy did not require surgery, while 75% of those receiving episodic (on-demand) treatment required surgery [19]. In 2019, Rodriguez-Merchan performed a comprehensive study on the role of orthopedic surgery in preventing arthropathy progression and structural joint defects in patients with hemophilia. He believed that prophylactic replacement of coagulation factors could play an important role in preventing and treating hemophilia-induced arthropathy. He also reported that prophylactic treatment with coagulation factors could significantly prevent deficient factors from decreasing to less than 1–3%. As a result, the need for various surgeries such as synovectomy would reduce [20].

For low-income countries, cost-effectiveness is an important factor in choosing an appropriate treatment option for patients with severe hemophilia A. Prophylactic treatment results in a significant decrease in ABR, lower number of infusions per year, and lower factor consumption compared to on-demand treatment. The latter requires frequent hospital visits. Fewer hospital referrals and better joint health in hemophilia patients receiving prophylactic treatment are expected to decrease expenses. Singh et al. compared prophylaxis and on-demand treatment approaches in patients with hemophilia. Following a decrease in ABR and improvement in joint function, clotting factor consumption reduced by 12.33% in the prophylactic group compared to the on-demand group [21]. These findings are in line with the results of our study. Another study in Iran performed a cost-benefit analysis of prophylaxis against on-demand treatment in pediatric male patients with severe hemophilia A. The authors reported that patients receiving prophylactic treatment had fewer bleeding episodes per month but required more concentrate. Furthermore, the average expenses per patient per month in the prophylaxis group were approximately 1.9 times higher than those in the on-demand group. Prophylaxis cost about €213.45 per bleeding event prevented. It was concluded that although prophylactic treatment could significantly

reduce the number of bleeding episodes, it was substantially more expensive [22]. Although hemophilia is partially covered by the national healthcare insurance system in Iran, we see that low-income families are less likely to be on prophylactic treatment. The impact of sociodemographic factors on treatment plans requires further studies. Our study demonstrates that there is a need to facilitate the prerequisites for prophylactic treatment by public health policy-makers of countries with similar conditions.

CONCLUSION

Prophylactic treatment is the gold standard in the management of patients with severe hemophilia A to prevent joint bleeding episodes and chronic arthropathy. Our study also showed that the frequency of bleeding episodes, the number of hospital visits per year, the annual number of infusions, and treatment costs were higher in the on-demand group than in the prophylaxis group. In conclusion, prophylactic treatment seems to be more effective in patients with hemophilia type A.

ACKNOWLEDGMENTS

This manuscript is partially based on the thesis of Tina Alidoust M.D., the Faculty of Medicine, the Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences.

FUNDING

This study was supported by grants from the Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

CONFLICT OF INTEREST

The authors certify that they have no affiliations with or involvement in any organization or entity with any financial interest (such as honoraria; educational grants; participation in speakers' bureaus; membership, employment, consultancies, stock ownership, or other equity interest; and expert testimony or patent-licensing arrangements), or non-financial interest (such as personal or professional relationships, affiliations, knowledge or beliefs) in the subject matter or materials discussed in this manuscript.

ORCID

Mohammad Bahadoram ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7106-9799>

Arash Alghasi ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3482-2195>

Mohammad-Reza Mahmoudian-Sani ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1096-5661>

Esma'il Akade ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7722-0165>

Bijan Keikhaei ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3087-7650>

References

- Sarangi S.N., Acharya S.S. Bleeding disorders in congenital syndromes. *Pediatrics* 2017; 139 (2): e20154360.
- Rostami S., Namaki Khameneh S., Keikhaei Dehdezi B., Haghhighizadeh M.H. The Effect of Family-centered Empowerment on Quality of Life in Children with Hemophilia. *Avicenna J Nurs Midwifery Care* 2020; 28 (1): 1–10.
- Ay C., Perschy L., Rejtö J., Kaider A., Pabinger I. Treatment patterns and bleeding outcomes in persons with severe hemophilia A and B in a real-world setting. *Ann Hematol* 2020; 99 (12): 2763–71.
- Castaman G., Matino D. Hemophilia A and B: molecular and clinical similarities and differences. *Haematologica* 2019; 104 (9): 1702–9.
- Thornburg C.D., Duncan N.A. Treatment adherence in hemophilia. *Patient Prefer Adherence* 2017; 11: 1677.
- Mannucci P.M. Hemophilia therapy: the future has begun. *Haematologica* 2020; 105 (3): 545–53.
- Nugent D., O'Mahony B., Dolan G.; International Haemophilia Access Strategy Council. Value of prophylaxis vs on-demand treatment: Application of a value framework in hemophilia. *Haemophilia* 2018; 24 (5): 755–65.
- Lobet S., Hermans C., Lambert C. Optimal management of hemophilic arthropathy and hematomas. *J Blood Med* 2014; 5: 207–18.
- Mancuso M.E.E., Reding M., Negrier C., Kerlin B., Rajgarajan S., Simpson M.L. Decreased Bleeding Rates in Patients with Hemophilia A Switching from Standard-half-life FVIII to BAY 94-9207 Prophylaxis. *Thromb Haemost* 2021; 121 (8): 1079–86.
- Krishnan S., Vietri J., Furlan R., Duncan N. Adherence to prophylaxis is associated with better outcomes in moderate and severe haemophilia: results of a patient survey. *Haemophilia* 2015; 21 (1): 64–70.
- Manco-Johnson M.J., Soucie J.M., Gill J.C. Joint Outcomes Committee of the Universal Data Collection USHTCN. Prophylaxis usage, bleeding rates, and joint outcomes of hemophilia, 1999 to 2010: a surveillance project. *Blood* 2017; 129 (17): 2368–74.
- Ljung R. Aspects of prophylactic treatment of hemophilia. *Thromb J* 2016; 14 (1): 30.
- Castaman G., Linari S. Prophylactic versus on-demand treatments for hemophilia: advantages and drawbacks. *Expert Rev Hematol* 2018; 11 (7): 567–76.
- Tang L., Wu R., Sun J., Zhang X., Feng X., Zhang X., et al. Short-term low-dose secondary prophylaxis for severe/moderate haemophilia A children is beneficial to reduce bleed and improve daily activity, but there are obstacle in its execution: a multi-centre pilot study in China. *Haemophilia* 2013; 19 (1): 27–34.
- Zhao Y., Xiao J., Yang R., Wu R., Hu Y., Beckmann H., et al. Efficacy of standard prophylaxis versus on-demand treatment with bayer's sucrose-formulated recombinant FVIII (rFVIII-FS) in Chinese children with severe hemophilia A. *Pediatr Hematol Oncol* 2017; 34 (3): 146–56.
- Gringeri A., Lundin B., Von Mackensen S., Mantovani L., Mannucci P., Group E.S. A randomized clinical trial of prophylaxis in children with hemophilia A (the ESPRIT Study). *J Thromb Haemost* 2011; 9 (4): 700–10.
- Morfini M., Haya S., Tagariello G., Pollmann H., Quintana M., Siegmund B., et al. European study on orthopaedic status of haemophilia patients with inhibitors. *Haemophilia* 2007; 13 (5): 606–12.
- Rocino A., Franchini M., Coppola A. Treatment and prevention of bleeds in haemophilia patients with inhibitors to factor VIII/IX. *J Clin Med* 2017; 6 (4): 46.
- Tagliaferri A., Feola G., Molinari A.C., Santoro C., Rivolta G.F., Cultrera D.B., et al. Benefits of prophylaxis versus on-demand treatment in adolescents and adults with severe haemophilia A: the POT-TER study. *Thromb Haemost* 2015; 114 (1): 35–45.
- Rodríguez-Merchán E.C. The role of orthopaedic surgery in haemophilia: current rationale, indications and results. *EFORT Open Rev* 2019; 4 (5): 165–73.
- Singh A., Mehta S., Goyal L.K., Mehta S., Sharma B.S. Low Dose Prophylaxis vis-a-vis on-Demand Treatment Strategies for Hemophilia: A Cost Effective and Disability Attenuating Approach. *J Assoc Physicians India* 2019; 67: 52.
- Daliri A.A.K., Haghparast H., Mamikhani J. Cost-effectiveness of prophylaxis against on-demand treatment in boys with severe hemophilia A in Iran. *Int J Technol Assess Health Care* 2009; 25 (4): 584.

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 05.12.2023
Принята к печати 26.10.2024



EDN: JJGHFM

Контактная информация:

Головина Елена Михайловна,
лаборант-исследователь
лаборатории патологии гемостаза ФГБУ
«НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России; врач-гематолог
отделения детской онкологии
и гематологии с химиотерапией
ГБУ РО «Областная детская
клиническая больница»
Адрес: 344015, Ростов-на-Дону,
ул. 339-й Стрелковой дивизии, 14
E-mail: golovinhelen@yandex.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-62-70

Особенности диагностики болезни Виллебранда 2В типа у детей

Е.М. Головина^{1,2}, А.В. Полетаев², Е.А. Серёгина^{2,3}, Д.В. Фёдорова², А.В. Пшонкин², П.А. Жарков²

¹ГБУ РО «Областная детская клиническая больница», Ростов-на-Дону

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

³ФГБУН Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва

Несмотря на то, что болезнь Виллебранда (БВ) является распространенной коагулопатией, некоторые ее типы встречаются достаточно редко. Например, 2В тип регистрируется в 3–5% всех случаев БВ. Важными диагностическими маркерами данного типа являются тромбоцитопения, снижение активности фактора Виллебранда (vWF), повышение агрегации тромбоцитов с низкими дозами ристомидина и выявление мутаций в экзоне 28 гена vWF. Цель работы: продемонстрировать сложность дифференциальной диагностики и гетерогенность клинических и лабораторных проявлений БВ 2В типа. В ретроспективный анализ включили всех детей с диагнозом БВ 2В типа, установленным в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Для анализа использовались деперсонифицированные данные, полученные в ходе рутинной клинической практики, поэтому одобрения локального этического комитета не требовалось. У всех пациентов проводилась оценка данных анамнеза, степени кровоточивости по шкале Pediatric Bleeding Questionnaire, выполнялось необходимое лабораторное обследование. Диагноз БВ 2В типа устанавливался на основании следующих критериев: наличие симптомов кровоточивости, тромбоцитопения, выраженное снижение ристомидин-кофакторной активности vWF, нормальное или умеренно пониженное значение антигена vWF, соотношение ристомидин-кофакторной активности и антигена vWF < 0,7, повышение агрегации тромбоцитов с низкими дозами ристомидина. Диагноз БВ 2В типа был установлен 7 детям. У 5 из них имелись жалобы на кровоточивость, еще у 2 был отягощен семейный анамнез по БВ. У всех детей на первом году жизни была выявлена тромбоцитопения. Диагноз иммунная тромбоцитопения первично был установлен в 5 случаях, из них 1 пациентка имела отягощенный семейный анамнез по БВ. Все пациенты с установленным диагнозом иммунной тромбоцитопении получили курсы внутривенных иммуноглобулинов, кроме того, 1 ребенок – курсы глюкокортикостероидов. Значимые кровотечения, потребовавшие госпитализации в стационар до постановки диагноза БВ, отмечались у 3 пациентов. Характерный лабораторный фенотип имели все пациенты, кроме того, в 5 случаях отмечалось снижение коллаген-связывающей способности vWF. Двум пациентам с отягощенным семейным анамнезом диагноз был подтвержден генетически. В обоих случаях были выявлены мутации, как в экзоне 20, так и в экзоне 28 гена vWF. Полученные результаты согласуются с данными литературы о трудности дифференциальной диагностики данного типа БВ. Исследование агрегации тромбоцитов с низкими дозами ристомидина в совокупности с данными других лабораторных исследований позволяет эффективно дифференцировать лабораторный фенотип БВ 2В типа. Главной терапевтической опцией для пациентов со всеми типами БВ в нашей стране по-прежнему является заместительная факторная терапия.

Ключевые слова: болезнь Виллебранда 2В типа, дети, коагулопатия, тромбоцитопения, иммунная тромбоцитопения

Головина Е.М. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 62–70. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-62-70

Diagnosis of type 2B von Willebrand disease in children

E.M. Golovina^{1,2}, A.V. Poletaev², E.A. Seregina^{2,3}, D.V. Fedorova², A.V. Pshonkin², P.A. Zharkov²

¹Regional Children's Clinical Hospital, Rostov-on-Don

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

³Center for Theoretical Problems of Physical and Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow

Even though von Willebrand disease (vWD) is a common bleeding disorder, it comprises some rare types as well. Type 2B vWD is usually diagnosed in 3–5% of all vWD cases. The important diagnostic markers of this disease subtype include thrombocytopenia, decreased von Willebrand factor (vWF) activity, increased low-dose ristocetin-induced platelet aggregation, and identification of mutations in exon 28 of the vWF gene. The purpose of this study was to highlight challenges associated with the differential diagnosis of vWD as well as to demonstrate heterogeneous clinical and laboratory signs of type 2B vWD. Here, we retrospectively analyzed all the cases of type 2B vWD diagnosed at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology. For the analysis, we used de-identified data collected during routine clinical care and hence did not need an approval from the Local Ethics Committee. All the patients had undergone medical history assessment and laboratory investigations and had been evaluated for bleeding disorders using the Pediatric Bleeding Questionnaire. Type 2B vWD was diagnosed based on the following criteria: bleeding symptoms, thrombocytopenia, significantly decreased vWF ristocetin-cofactor activity, normal or decreased vWF antigen levels, ristocetin-cofactor activity/vWF antigen ratio < 0.7; increased low-dose ristocetin-induced platelet aggregation. Type 2B vWD was diagnosed in 7 patients. Out of these, 5 had bleeding symptoms and 2 had a family history of vWD. All the children had been diagnosed with thrombocytopenia during their first year of life. Five patients had been initially diagnosed with immune thrombocytopenia, with one girl having a family history of vWD. All the patients with diagnosed immune thrombocytopenia had been treated with intravenous immunoglobulins, and one child had also undergone treatment with corticosteroids. Three patients had had to be admitted to hospital for major bleeding before they were diagnosed with vWD. All the patients had the typical laboratory phenotype, and five out of them demonstrated decreased vWF collagen-binding activity. In two patients with positive family history, the diagnosis was genetically verified, with both of them harboring mutations in exons 20 and 28 of the vWF gene. Our findings are consistent with

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 05.12.2023

Accepted 26.10.2024

Correspondence:

Elena M. Golovina,

a research technician at the Laboratory of Hemostasis Disorders at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation; a hematologist at the Department of Pediatric Oncology and Hematology with Chemotherapy at Regional Children's Clinical Hospital
Address: 339 Rifle Division St. 14, Rostov-on-Don 344015, Russia
E-mail: golovinhelen@yandex.ru

the literature suggesting how challenging differential diagnosis of this vWD type is. Still, a low-dose ristocetin-induced platelet aggregation test along with other laboratory investigations can be used to effectively identify the type 2B vWD phenotype. In Russia, factor replacement therapy remains the primary treatment option for patients with any type of vWD.

Key words: type 2B von Willebrand disease, children, bleeding disorders, thrombocytopenia, immune thrombocytopenia

Golovina E.M., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 62–70.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-62-70

Блезнь Виллебранда (БВ) – самая распространенная геморрагическая коагулопатия, регистрируемая в популяционных скрининговых исследованиях у 0,6–1,3% населения [1, 2]. При оценке количества всех клинически значимых случаев БВ относительно количества людей, проживающих в стране, ее распространенность составляет от 23 до 110 на 1 млн населения (0,0023–0,01%) [3]. БВ развивается в результате качественного или количественного дефицита фактора Виллебранда (vWF).

vWF представляет собой крупный мультимер, состоящий из многократно повторяющихся идентичных субъединиц, имеющих несколько различных типов доменов, ответственных за связывание vWF с тромбоцитами, коллагеном, фактором свертывания крови VIII (FVIII), а также за димеризацию, мултимеризацию данного белка и его протеолиз металлопротеиназой ADAMTS13. Молекулярная масса vWF составляет до 20 000 кДа, а длина – до 1,8 мкм. Его синтез происходит в эндотелиоцитах и мегакариоцитах, где он накапливается в тельцах Вейбла–Паллада и альфа-гранулах соответственно. Основными функциями vWF являются адгезия тромбоцитов к субэндотелиальным структурам и защита FVIII от протеолитической инактивации [4]. Кроме того, имеются свидетельства участия vWF в регуляции ангиогенеза [5].

В настоящее время выделяют 6 типов БВ – для 1-го и 3-го типов характерны количественные дефициты, а для 2А, В, М и N типов – качественные [4]. Диагностика 1-го и 3-го типов довольно проста, в то время как уточнение качественных нарушений при БВ требует проведения большого количества диагностических тестов, нередко имеющих крайне гетерогенные результаты [6, 7]. Особенно трудна диагностика БВ 2В типа, часто маскирующегося под другие, более распространенные гематологические заболевания [8].

Тип 2В встречается примерно в 5% всех случаев БВ и характеризуется повышением сродства домена А1 vWF к гликопротеину Ib тромбоцитов в результате возникновения миссенс-мутаций в экзоне 28 гена vWF [9]. Наследование 2В типа обычно является аутомно-доминантным, однако не редки и мутации, возникающие *de novo*. Из-за этих изменений vWF интенсивно связывает тромбоциты и затем они вместе элиминируются из кровотока, что проявляется характерными лабораторными изменениями. Из них наиболее постоянными являются снижение ристомин-кофакторной активности vWF

(vWF:RCo), соотношение ристомин-кофакторной активности и антигена vWF (RCo/Ag) < 0,7, тромбоцитопения и повышение агрегации тромбоцитов с низкими дозами ристомина [7]. В связи с редкостью данного типа БВ в литературе встречаются преимущественно описания отдельных клинических случаев заболевания [8–10]. В реальной клинической практике, как правило, первым лабораторным признаком болезни является изолированная тромбоцитопения, которая направляет диагностический поиск в неверном направлении, из-за чего пациенты длительно получают недостаточно эффективное в их случае лечение.

В рамках данного исследования мы провели анализ пациентов с установленным 2В типом БВ, обратившихся в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России с 2018 по 2022 г., в целях демонстрации сложности дифференциальной диагностики и гетерогенности проявлений этого заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В статье представлен ретроспективный анализ детей с установленным диагнозом БВ 2В типа, размер выборки заранее не учитывался. Для анализа использовались деперсонифицированные данные, полученные в ходе рутинной клинической практики, поэтому одобрения локального этического комитета не требовалось.

Диагноз БВ 2В типа устанавливался на основании следующих клинических и лабораторных критериев: наличие симптомов кровоточивости, тромбоцитопения, выраженное снижение vWF:RCo, нормальное или умеренно пониженное значение антигена vWF (vWF:Ag), соотношение RCo/Ag < 0,7, повышение агрегации тромбоцитов с низкими дозами ристомина.

Проводился анализ анамнеза заболевания: учитывались предшествующие диагнозы и терапия, возраст установления диагноза БВ, частота и тяжесть спонтанных и индуцированных геморрагических эпизодов, наличие косвенных признаков их тяжести – дефицит железа, степень анемизации, потребность в трансфузиях препаратов крови. В целях объективизации данных геморрагического анамнеза проводилась оценка по шкале кровоточивости Pediatric Bleeding Questionnaire (PBQ), где патологическим считалось значение 2 балла и более. Кроме того, всем пациентам было проведено лабораторное

обследование: подсчет количества тромбоцитов, измерение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), vWF:RCo, концентрации vWF:Ag, соотношения RCo/Ag, агрегации тромбоцитов со стандартными (RIPA) и низкими (LD-RIPA) дозами ристомидина, коллаген-связывающей активности vWF (vWF:CB), активности FVIII.

Методика проведения лабораторных исследований

АЧТВ (SynthASil, Instrumentation laboratory, США) и активность FVIII (FVIII deficient plasma, Instrumentation laboratory, США) – клоттинговые методы, vWF:Ag (Instrumentation laboratory, США) и vWF:RCo (Instrumentation laboratory, США) – иммунотурбидиметрические методы, определялись на автоматическом коагулометре ACL TOP 750 (Instrumentation laboratory, США). Методом иммуноферментного анализа из замороженных аликвотированных образцов бедной тромбоцитами плазмы (режим центрифугирования 15 мин 1600g) выполнялось исследование vWF:CB (Asserachrom vWF:CB, Stago, Франция). Световую агрегометрию измеряли в богатой тромбоцитами плазме (режим центрифугирования 10 мин 300g) на лазерном агрегометре АЛАТ-2 (НПО «Биола», Россия). Исследования проводили на богатой тромбоцитами плазме со следующими индукторами: ристомидин – 15 мг/мл (НПО «Ренам», Россия), низкая доза ристомидина – 7 мг/мл (НПО «Ренам», Россия). Анализ ДНК пациентов проводился на платформе NextSeq Illumina

методом парно-концевого чтения (115 × 2) с медианной глубиной прочтения 219× и покрытием целевого региона 99% при глубине прочтения не менее 30× с использованием панели «Тромбоцитопении и тромбоцитопатии».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С 2018 по 2022 г. 7 пациентам был установлен диагноз БВ 2В типа. Результаты обследования во всех случаях соответствовали критериям диагноза данного типа БВ. Среди пациентов с диагностированным 2В типом БВ распределение по полу было следующим: 2 девочки, 5 мальчиков. Минимальный возраст на момент установления диагноза составил 3 месяца, максимальный – 14 лет. Сводные анамнестические, клинические и лабораторные данные о каждом пациенте представлены в *таблице*.

В 5 случаях поводом для обращения к гематологу стали жалобы на эпизоды кровоточивости (пациенты №1, 3, 5–7), в 2 случаях – снижение числа тромбоцитов в гемограмме (пациенты №2 и №4). Семейный анамнез по БВ был отягощен у пациентов №3 и №5, у бабушки пациента №1 имелись жалобы на кровоточивость, однако диагноз установлен не был. У пациентов №1–3 геморрагические симптомы появились еще в первые дни жизни (кровоточивость из мест инъекций, петехиальная сыпь). Снижение количества тромбоцитов на первом году жизни отмечалось у всех детей: у пациентов №1–5 выявлено в первые дни жизни, у пациентов №6 и №7 – в первые месяцы.

Таблица

Сводные анамнестические, клинические и лабораторные данные пациентов с выявленным 2В типом БВ

Table

Summarized medical history, clinical and laboratory data of the patients with type 2B von Willebrand disease (vWD)

Параметр Parameter	Пациент №1 Patient No. 1	Пациент №2 Patient No. 2	Пациент №3 Patient No. 3	Пациент №4 Patient No. 4	Пациент №5 Patient No. 5	Пациент №6 Patient No. 6	Пациент №7 Patient No. 7
1	2	3	4	5	6	7	8
Режим терапии Treatment regimen	«По требованию» Upon request	«По требованию» Upon request					
Тромбоциты, тыс/мкл Platelets, thousand/mcl	157	184	182	114	96	10	62
LD-RIPA						Не проводилось (мало тромбоцитов) Was not performed (not enough platelets)	
FVIII, %	34,1	107,9	38,2	58,5	35	86	–
vWF:CB	19	27,5	6,85	109	2,89	6,4	–
RCo/Ag	0,13	0,06	0,25	0,4	0,17	0,07	0,18
vWF:Rco	3,1	4	8,7	30,4	4,4	5,8	5,2
vWF:Ag	24,6	70,1	34,8	76,6	26,1	79,8	28,6
АЧТВ, с aPTT, s	39,8	28,2	36,6	35,8	49,4	–	37,7
PBQ, баллы PBQ, scores	4	4	12	2	2	8	10
Пол Gender	Мужской Male	Мужской Male	Женский Female	Мужской Male	Мужской Male	Женский Female	Мужской Male

1	2	3	4	5	6	7	8
Анамнез Medical history	Тромбоцитопения с рождения, имеет циклический характер, расценена как изоиммунная. В первый месяц жизни терапия ВВИГ, менадиона натрия бисульфит, этамзилат с частичным ответом. В дальнейшем умеренный кожно-слизистый геморрагический синдром (гематомы, петехии, десневые кровотечения). Гемотрансфузии не проводились Cyclic thrombocytopenia since birth, thought to be iso-immune. During the first month of life the child was treated with IVIGs, menadione sodium bisulfite, etamsylate achieving partial response. Later on, the patient developed moderate cutaneous and mucosal hemorrhagic syndrome (hematomas, petechiae, gingival bleeding). No blood transfusions	Тромбоцитопения с рождения, расценена как аллоиммунная. Проводилась трансфузия тромбоконцентрата, терапия ВВИГ с частичным ответом. Тромбоцитопения имеет циклический характер. Проводился дифференциальный диагноз с синдромом Вискотта–Олдрича. Жалобы на спонтанные носовые кровотечения (максимум до 12 ч), кровотечения из мест инъекций Cyclic thrombocytopenia since birth, thought to be allo-immune. The child received platelet concentrate transfusions and IVIGs achieving partial response. Differential diagnosis between vWD and Wiskott-Aldrich syndrome was carried out. Complaints of spontaneous nosebleeds (lasting for up to 12 hours), bleeding from injection sites	Тромбоцитопения с рождения, имеет циклический характер, расценена как иммунная. Получала ВВИГ с эффектом. Диагноз БВ установлен в первые месяцы жизни. Кровотечения из раны языка, лунок зубов, спонтанные носовые кровотечения, межмышечные гематомы Cyclic thrombocytopenia since birth, thought to be immune. The child was treated with IVIGs with positive response. VWB was diagnosed during the first months of life. Bleeding from tongue injuries, alveolar sockets, spontaneous nosebleeds, muscular hematomas	Тромбоцитопения с рождения, сохранялась в первые месяцы. Затем нормальные или умеренно пониженные значения. Спонтанные носовые кровотечения до 5 раз в год длительностью до 10 мин Thrombocytopenia since birth, persisted during the first months of life. Later on, the values were either normal or moderately decreased. Spontaneous nosebleeds up to 5 times a year, lasting for up to 10 minutes	Тромбоцитопения с рождения (нестойкая с повышением тромбоцитов до нормальных значений). В раннем возрасте повторные кровотечения из уздечки губы, далее легкое проявление синяков Thrombocytopenia since birth (non-persistent, with platelet counts reaching normal values at times). In early childhood, the patient had repeated bleeds from the tongue frenulum, and later on, slight bruising	Впервые тромбоцитопения выявлена в 9 месяцев (ранее общий анализ крови не исследовался), расценена как иммунная. Получала ВВИГ с частичным ответом. Далее тромбоциты максимум до 70 тыс/мкл. В 2020 г. аппендэктомия без геморрагических осложнений. Кожный геморрагический синдром, редко – спонтанные носовые кровотечения, меноррагии Thrombocytopenia was diagnosed at 9 months (no blood testing had been performed in the child before that) and thought to be immune. The patient was treated with IVIGs and achieved a partial response. After the treatment, maximum platelet count amounted to 70 000/mcl. In 2020, she underwent appendectomy, without bleeding complications. Her symptoms included bleeding into the skin, rare spontaneous nosebleeds, menorrhagia	Впервые тромбоцитопения выявлена в 8 месяцев (ранее общий анализ крови не исследовался), расценена как иммунная. Получал этамзилат, затем курсы ВВИГ и ГКС неоднократно. Спонтанные носовые кровотечения (максимум до 6 ч), кровотечения при удалении зубов, однократно кровотечение из желудочно-кишечного тракта. Неоднократно заместительные трансфузии эритроцитарной взвеси Thrombocytopenia was diagnosed at 8 months (no blood testing had been performed in the child before that) and thought to be immune. The patient received etamsylate, then numerous cycles of IVIGs and GCCs. Spontaneous nosebleeds (lasting for up to 6 hours), bleeding after tooth extraction, a one-time gastrointestinal bleeding. The child received numerous red blood cell suspension transfusions
Отягощенность анамнеза по БВ Family history of vWD	Нет (у бабушки легкое появление экхимозов, меноррагии) None (the grandmother had minor ecchymoses, menorrhagia)	Нет None	Мать Mother	Нет None	Сестра, мать, дядя и дед по линии матери Sister, mother, maternal uncle and grandfather	Нет None	Нет None
Возраст на момент постановки диагноза Age at the time of diagnosis	1 год 1 year	2 года 2 years	3 месяца 3 months	3 года 3 years	11 месяцев 11 months	14 лет 14 years	10 лет 10 years

Примечание. ВВИГ – внутривенные иммуноглобулины; ГКС – глюкокортикостероиды.

Notes. aPTT – activated partial thromboplastin time, IVIGs – intravenous immunoglobulins, GCCs – glucocorticoids.

У всех детей показатели тромбоцитов колебались от низких до нормальных значений, при этом родители не отмечали связи выраженности геморрагических проявлений с тяжестью тромбоцитопении. В 5 случаях выявленное снижение тромбоцитов расценивалось как иммунное (пациенты №3, 6, 7 – иммунная тромбоцитопения (ИТП), пациент №1 – изоиммунная, пациент №2 – аллоиммунная), в связи с чем в лечении 1 пациенту (№7) проводились многократные курсы ВВИГ и ГКС, 4 – однократные курсы ВВИГ (пациенты №1–3, 6). У всех 5 пациентов, получивших терапию ВВИГ, регистрировался кратковременный частичный ответ, у пациента №7 отмечался частичный ответ и на ГКС. Также в 1 случае (пациент №2) в родильном доме ребенку проводились трансфузии тромбоконцентрата. В ходе наблю-

дения по месту жительства 1 ребенку проводилась дифференциальная диагностика ИТП с синдромом Вискотта–Олдрича (пациент №2) и 1 – с синдромом Бернара–Суллье (пациент №6). Родители пациентов №3 и №5, имеющих отягощенный анамнез по БВ, самостоятельно обратились к гематологу, что позволило ускорить диагностический поиск и подтвердить БВ в возрасте 3 и 11 месяцев соответственно. При этом пациентка №3 успела получить терапию по поводу ИТП до постановки верного диагноза.

У всех пациентов периодически регистрировались лабораторные изменения, характерные для латентного дефицита железа, однако выраженная анемизация была зарегистрирована только у 3 пациентов (№1, 3, 7), 2 из них (№3 и №7) требовались госпитализации и проведение трансфузий эритроци-

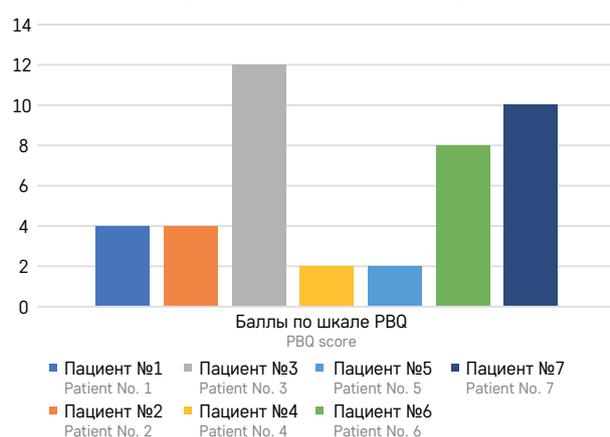
тарной взвеси. До момента установления диагноза БВ у 3 пациентов (№1, 6, 7) в анамнезе имелись эпизоды длительных кровотечений, потребовавших госпитализации в стационар. Из них 1 ребенку (пациент №1) потребовался хирургический гемостаз – ушивание ушибленной раны брови, еще 1 пациенту (№7) была проведена электрохимическая коагуляция сосудов зоны Киссельбаха в связи с рецидивами обильных носовых кровотечений. Одна пациентка (№6) перенесла оперативное вмешательство (аппендэктомия) и оно не сопровождалось геморрагическими осложнениями, при этом каждый эпизод менструации у нее требовал применения антифибринолитиков. После подтверждения диагноза БВ только 1 пациенту (№7) требовались госпитализации в стационар в связи с развитием носового кровотечения (дважды). По шкале RBQ 2 пациента имели по 2 балла, 2 – по 4 балла, по 1 пациенту – 8, 10 и 12 баллов (рисунки 1).

Геморрагические проявления у пациентов с подтвержденным 2В типом БВ представлены на рисунке 2.

Пять пациентов (№2–4, 6, 7) имели нормальные значения АЧТВ, у 2 (№1, 5) регистрировалось умеренное удлинение. В 4 случаях отмечалось снижение vWF:Ag (пациенты №1, 3, 5, 7): минимально до 34,8%, максимально до 26,1%. Снижение RCo отмечалось у всех пациентов: минимально до 30,4%, максимально до 3,1%. При этом соотношение RCo/Ag у всех пациентов было < 0,7. Снижение vWF:CB отмечалось у 5 пациентов (№1–3, 5, 6): минимально до 27,5%, максимально до 2,89%; у 1 ребенка (пациент №4) значение vWF:CB было в норме и у 1 (пациент №7) этот показатель не исследовался. Снижение активности FVIII было выявлено у 2 пациентов (№1 – 34,1%, №5 – 35%). У 6 пациентов регистрировались высокие значения LD-RIPA (норма 0–10%), в 1 случае по причине глубокой тромбоцитопении исследование провести не удалось. На

Рисунок 1
Распределение баллов по шкале RBQ у пациентов с подтвержденным 2В типом БВ

Figure 1
RBQ scores in the patients with confirmed type 2B vWD



момент выполнения исследования у 4 пациентов имелась тромбоцитопения (№6 – 10 тыс/мкл, №7 – 62 тыс/мкл, №5 – 96 тыс/мкл и №4 – 114 тыс/мкл), 3 имели нормальные пониженные значения (№1 – 157 тыс/мкл, №3 – 182 тыс/мкл и №2 – 184 тыс/мкл). Двум пациентам (№3 и №5) диагноз был подтвержден генетически, причем в обоих случаях мутация была выявлена не только в экзоне 28, но и в экзоне 20. У пациентов были выявлены идентичные миссенс-мутации: в экзоне 20 – с.2561G>A p.Arg854Gln (p.R854Q), в экзоне 28 – с.3916C>T p.Arg1306Trp (p.R1306W). Остальным 5 пациентам планируется проведение исследования.

После подтверждения диагноза всем детям было рекомендовано проведение терапии в режиме «по требованию» для лечения физиологически значимых кровотечений и обеспечения проведения инвазивных процедур. В настоящее время все пациенты в нашей выборке продолжают следовать этому режиму введения препаратов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Несмотря на то, что БВ является самой распространенной коагулопатией, 2В тип относится к орфанным заболеваниям и составляет лишь 3–5% всех случаев БВ [1, 2, 9]. В связи с редкостью данного типа заболевания в литературе преимущественно встречаются описания единичных клинических случаев. По нашим данным, это первая работа на территории Российской Федерации, посвященная анализу значительного для этой патологии числа клинических случаев БВ 2В типа у детей.

Среди всех причин снижения количества тромбоцитов у детей первого года жизни, с которыми сталкиваются врачи, БВ 2В типа также встречается достаточно редко. И поэтому при отсутствииотягоченного наследственного анамнеза пациентам

Рисунок 2
Геморрагические проявления у пациентов с подтвержденным 2В типом БВ

Figure 2
Hemorrhagic manifestations in the patients with confirmed type 2B vWD



диагностируются другие, более распространенные в этой возрастной группе причины тромбоцитопении. В нашей выборке детям чаще всего первично устанавливался диагноз ИТП. Причем он был приоритетным и у детей, которым дифференциальная диагностика также проводилась с синдромами Вискотта–Олдрича и Бернара–Сулье, и даже у 1 пациентки, имеющей отягощенный по БВ наследственный анамнез. Подобные трудности описываются и в литературе. Так, например, в клиническом случае, описанном J. Fan и соавт., выявленная на 6-е сутки после рождения тромбоцитопения была расценена как аллоиммунная и пациентка в первые месяцы жизни получила по 2 курса ГКС и ВВИГ с частичным ответом. В связи с сохранением тромбоцитопении на фоне проводимой терапии было выполнено обследование путем секвенирования нового поколения (next generation sequencing), в ходе которого выявленная мутация в экзоне 28 гена *vWF*, характерная для БВ 2В типа, оказалась для клиницистов случайной находкой. Семейный анамнез по БВ в 1 случае также не был отягощен [10]. Иногда пациентам, имеющим широкую семейную историю и диагноз БВ с неподтвержденным типом, устанавливается конкурирующий диагноз – ИТП, как, например, это описано в одном из клинических случаев, представленных R. Kruse-Jarres и соавт. [11].

Кроме ИТП дифференциация должна проводиться с некоторыми врожденными нарушениями функции и образования тромбоцитов. Тромбоцитопения и геморрагические проявления при синдроме Бернара–Сулье чаще всего обращают на себя внимание еще в неонатальном периоде. Это заболевание развивается в результате нарушения образования GPIb на поверхности тромбоцитов и характеризуется выраженным снижением RIPA при исследовании агрегации, тогда как *vWF:RCo* и *vWF:Ag* остаются в пределах нормальных значений [12]. Редким, но очень схожим с БВ 2В типа состоянием является так называемый тромбоцитарный тип БВ, который развивается в результате мутации, усиливающей способность GPIb связываться с доменом A1 *vWF* [13]. Для этого заболевания, так же как и для БВ 2В типа характерно повышение LD-RIPA, но специфические для БВ изменения активности *vWF* и мутации отсутствуют. В исследованиях было показано, что примерно у 15% пациентов с установленным диагнозом БВ 2В типа при дообследовании выявляется тромбоцитарный тип БВ [14]. Для синдрома Вискотта–Олдрича характерна микротромбоцитопения, а также признаки первичного иммунодефицита [15]. Кроме того, не следует забывать о других многочисленных врожденных и приобретенных причинах изолированной тромбоцитопении [16].

Наличие у пациентов, имеющих 2В тип БВ, частичного ответа на традиционную терапию ИТП

объяснимо. Повышение числа тромбоцитов у людей, получающих курсы ГКС, а также у пациентов с синдромом Кушинга, было описано еще в прошлом веке [17, 18]. Кратковременность ответа на ГКС при 2В типе БВ, вероятно, связана с их способностью активировать синтез *vWF*, приводя к его повышению [19]. В отсутствие качественного дефекта *vWF* этот и другие эффекты ГКС на свертывающую систему повышают риск венозных тромбозов [20]. У больных 2В типом БВ наоборот происходит быстрое образование ассоциаций дефектного *vWF* и тромбоцитов, после чего они элиминируются из кровотока, что вновь приводит к усилению геморрагических проявлений. Один из механизмов действия ВВИГ у данной группы пациентов может быть аналогичным их эффекту при ИТП – в некоторых случаях снижение тромбоцитов могло быть опосредовано не только особенностями патогенеза БВ 2В типа, но и иммунными механизмами. Кроме того, имеются описания влияния ВВИГ на выработку интерлейкина-11, который, в свою очередь, приводит к повышению тромбоцитов, FVIII и *vWF* у здоровых людей, пациентов с БВ и имеющих тромбоцитопению на фоне полихимиотерапии [21–24]. Как и в случае с ГКС, влияние ВВИГ не только на тромбоциты, но и на *vWF*, вероятно, обуславливает кратковременность эффекта от лечения.

В связи с редкостью заболевания крупные научные работы, в которых бы отдельно оценивалась выраженность геморрагических проявлений у детей, имеющих 2В тип БВ отсутствуют, однако имеются публикации исследований, куда были включены немногочисленные пациенты с этим типом заболевания, а также клинических случаев и их серий, где степень кровоточивости варьирует в широких пределах. В исследовании, проведенном в Аргентине в 2011 г., анализируются данные 194 детей с установленным диагнозом БВ, среди которых 12 пациентов имели 2В тип. Описано, что половина из них имели носовые кровотечения, кожный геморрагический синдром отмечался у 83,3%, а кровоточивость при экстракции зубов – у 16,7%. Все пациенты женского пола предъявляли жалобы на меноррагии. Также в 1 случае имелись данные о длительном кровотечении из пуповинного остатка. Геморрагические осложнения при оперативных вмешательствах, проводимых на фоне гемостатической терапии, отсутствовали [25]. В отдельных клинических случаях авторы преимущественно описывают кожный геморрагический синдром разной степени выраженности и кровоточивость при травматизации слизистой (прорезывание зубов, механическое повреждение и др.) [10, 11, 26].

Иногда симптомы кровоточивости в течение жизни настолько незначительны, что диагноз устанавливается уже в зрелом возрасте. Так, например,

описан случай подтверждения БВ 2В типа в возрасте 86 лет [27]. Однако не стоит считать, что геморрагический синдром при БВ 2В типа имеет исключительно «мягкое» течение. В литературе имеются данные о серьезных жизнеугрожающих геморрагических эпизодах. Так, например, были описаны случаи спонтанных внутримозговых кровоизлияний [28], иногда имеющих рецидивирующее течение [29]. В нашей выборке имелись различные варианты течения геморрагического синдрома, однако ни у одного пациента не было зарегистрировано жизнеугрожающих кровотечений и внутримозговых кровоизлияний. Оценка по шкале RBQ варьировала от 2 до 12 баллов, что также свидетельствует о гетерогенности геморрагических проявлений. До постановки диагноза дети госпитализировались в стационар для коррекции тромбоцитопении и по поводу кровотечений из мест травматизации, носовых и маточных кровотечений. Госпитализации в стационар после установления диагноза БВ потребовались лишь 1 пациенту в связи с развитием длительных носовых кровотечений и невозможностью проведения факторной терапии в домашних условиях.

Полученные нами результаты лабораторных исследований согласуются с литературными данными: как правило, у пациентов имеется снижение vWF:RCo. Снижение vWF:Ag и активности FVIII регистрируется не всегда и, как правило, носит пропорциональный характер [5, 6, 30]. Описанные случаи снижения vWF:CB обычно связаны с утратой высокомолекулярных изоформ vWF. Визуализация распределения мультимеров vWF в зависимости от их размера может осуществляться при помощи электрофореза изоформ vWF в геле [31]. Пациентам в нашей выборке до настоящего времени мультимерный анализ vWF не проводился.

Долгое время важным подтверждающим исследованием для БВ 2В типа считалось повышение LD-RIPA в сочетании с тромбоцитопенией и снижением активности vWF [32]. Данное тестирование позволяет с высокой вероятностью дифференцировать характерные лабораторные фенотипические признаки 2В типа БВ, но имеет некоторые ограничения. Например, для исследования требуются только свежие образцы крови, и их транспортировка в лабораторию должна происходить в максимально короткие сроки. Кроме того, отсутствует стандартизированная методика проведения исследования и поэтому дозы ристомидина варьируют в различных лабораториях. Среди прочих ограничений также выделяют чувствительность метода к разнообразным дефектам преаналитического этапа и трудность проведения исследования при выраженном снижении тромбоцитов. При этом при повторном обследовании пациентов диагноз подтверждался лишь в 60–77% случаев

[33]. В нашей выборке значение LD-RIPA было повышено у 6 из 7 пациентов, а в 1 случае исследование не было проведено по причине глубокой тромбоцитопении. В последнем случае диагноз был установлен на основании характерного лабораторного фенотипа, но для его подтверждения уже запланировано проведение генетического исследования.

В связи с наличием ограничений исследования LD-RIPA руководство, изданное в 2021 г., предлагает считать генетическое определение патогенных мутаций в экзоне 28 гена *vWF* ключевым методом диагностики 2В типа БВ. Бесспорным плюсом этого теста является возможность отсроченной работы с образцами, что позволяет транспортировать кровь в лабораторию из отдаленных регионов. Кроме того, он менее чувствителен к тромбоцитопении и дефектам преаналитического этапа [6]. Однако и он не идеален. Генетическое исследование позволяет выявить лишь наличие мутации и, если она описана как патогенная или вероятно патогенная, подтвердить заболевание при наличии характерных фенотипических особенностей [34]. При этом описаны как мутации в экзоне 28 гена *vWF*, относящиеся к другим подтипам БВ [7], так и мутации, выявляемые в нетипичных для 2В типа участках гена, например, в одном из клинических случаев у пациентки имелись характерный для БВ 2В типа лабораторный фенотип и мутация, обычно выявляемая при 2А типе [35]. Также встречаются и ранее неизвестные мутации, которые трактуются в пользу того или иного типа в зависимости от имеющихся клинических и лабораторных данных [36]. Некоторые авторы при отсутствии характерного лабораторного фенотипа и наличии мутаций в экзоне 28 все же предлагают считаться с диагнозом БВ 2В типа [37]. Отдельные авторы, напротив, не отрицая эффективность генетического обследования, все еще считают LD-RIPA хорошей скрининговой методикой, указывая на потребность в ее стандартизации [34]. У большинства описанных нами пациентов диагностика осуществлялась до 2021 г., поэтому генетическое обследование проводилось только 2 детям, которые помимо «классической» мутации в экзоне 28 имели и мутацию в экзоне 20 гена *vWF*.

Зарубежные руководства учитывают, что верификация диагноза важна для правильного подбора терапевтических опций – пациентам, имеющим 2В тип, противопоказаны препараты десмопрессина. Его интраназальные формы стимулируют выброс vWF, содержащегося в тельцах Вейбла–Паллада эндотелиоцитов и альфа-гранулах тромбоцитов, что при 2В типе лишь усиливает тромбоцитопению и течение геморрагического синдрома [6]. В Российской Федерации препараты десмопрессина для лечения пациентов с БВ не зарегистрированы и главной терапевтической опцией является заместительная

факторная терапия. Все описанные нами пациенты получали препараты факторов свертывания крови в режиме «по требованию» – при возникновении значимых кровотечений или необходимости проведения инвазивных процедур. Однако, как уже говорилось выше, геморрагические проявления при 2В типе БВ гетерогенны и имеются данные об успешном осуществлении заместительной факторной терапии в режиме профилактики у пациентов с выраженной кровоточивостью [38]. В литературе встречаются также редкие упоминания о применении агонистов рецепторов тромбоцитина у пациентов с тяжелыми геморрагическими проявлениями [39], связывающие их эффективность среди прочего с нарушением тромбоцитопозеза у больных 2В типом БВ [40].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

БВ 2В типа – редкое заболевание, которое скрывается под масками более распространенных гематологических болезней у детей и ведет лечащего врача по ложному следу. Дебют в раннем возрасте с тромбоцитопенией и геморрагического синдрома диктует необходимость включения БВ 2В типа в спектр дифференциальных диагнозов младенческих тромбоцитопений. При этом при всей трудности диагностики большинство описанных случаев БВ 2В типа имело доброкачественное течение и не сопровождалось тяжелыми жизнеугрожающими кровотечениями, что не исключает их развития в редких случаях. Диагно-

стика данного типа БВ непроста и рекомендации по приоритетности генетического обследования не исключают исследования LD-RIPA наравне с другими традиционными тестами для подтверждения лабораторного фенотипа заболевания. При этом результаты генетического обследования со временем, скорее всего, перестанут быть конечной точкой в постановке диагноза БВ 2В типа. Главной терапевтической опцией для пациентов с БВ в настоящее время в Российской Федерации является заместительная факторная терапия, которая проводится в режимах профилактики или «по требованию» в зависимости от характера течения геморрагического синдрома у конкретного пациента.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Коллектив авторов выражает благодарность сотрудникам ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, фонду «Лечим вместе», а также администрации ГБУ РО «Областная детская клиническая больница» (Ростов-на-Дону).

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Golovina E.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4452-5821>

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

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

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

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

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

Литература / References

1. Biron C., Mahieu B., Rochette A., Capdevila X., Castex A., Amiral J., et al. Preoperative screening for von Willebrand disease type 1: low yield and limited ability to predict bleeding. *J Lab Clin Med* 1999; 134 (6): 605–9. DOI: 10.1016/s0022-2143(99)90100-2
2. Werner E.J., Broxson E.H., Tucker E.L., Giroux D.S., Shults J., Abshire T.C. Prevalence of von Willebrand disease in children: a multi-ethnic study. *J Pediatr* 1993; 123 (6): 893–8. DOI: 10.1016/s0022-3476(05)80384-1
3. Sadler J.E., Mannucci P.M., Berntorp E., Bochkov N., Boulyjenkov V., Ginsburg D., et al. Impact, diagnosis and treatment of von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 2000; 84: 160–74.
4. Starke R.D., Ferraro F., Paschalaki K.E., Dryden N.H., McKinnon T.A., Sutton R.E., et al. Endothelial von Willebrand factor regulates angiogenesis. *Blood*. 2011; 117 (3): 1071–80. DOI: 10.1182/blood-2010-01-264507
5. Nichols W.L., Hultin M.B., James A.H., Manco-Johnson M.J., Montgomery R.R., Ortel T.L., et al. von Willebrand disease (VWD): evidence-based diagnosis and management guidelines, the National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) Expert Panel report (USA). *Haemophilia* 2008; 14 (2): 171–232. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2007.01643.x
6. James P.D., Connell N.T., Ameer B., Di Paola J., Eikenboom J., Giraud N., et al. ASH ISTH NHF WFH 2021 guidelines on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood Adv* 2021; 5 (1): 280–300. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020003265
7. Favalaro E.J., Dean E., Arunachalam S., Vong R., Mohammed S. Evaluating errors in the laboratory identification of von Willebrand disease using contemporary von Willebrand factor assays. *Pathology* 2022; 54 (3): 308–17. DOI: 10.1016/j.pathol.2021.07.001
8. Proud L., Ritchey A.K. Management of type 2b von Willebrand disease in the neonatal period. *Pediatr Blood Cancer* 2017; 64: 103–5. DOI: 10.1002/pbc.26168
9. Hepner D.L., Tsen L.C. Severe Thrombocytopenia, Type 2B von Willebrand Disease and Pregnancy. *Anesthesiology* 2004; 101: 1465–7. DOI: 10.1097/0000542-200412000-00029
10. Fan J., Ling J., Zhou H., He J., Hu S. Case Report: An Infant with Severe Thrombocytopenia Diagnosed with Type 2B von Willebrand Disease Due To a De Novo p.Val1316Met Mutation. *Turk J Haematol* 2020; 37 (4): 296–8. DOI: 10.4274/tjh.galenos.2020.2020.0213
11. Kruse-Jarres R., Johnsen J.M. How I treat type 2B von Willebrand disease. *Blood* 2018; 131 (12): 1292–300. DOI: 10.1182/blood-2017-06-742692
12. Almomani M.H., Mangla A. Bernard Soulier Syndrome. [Updated 2022 May 14]. In: StatPearls [Electronic resource]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557671> (accessed 22.10.2024).
13. Bury L., Malara A., Momi S., Petito E., Balduini A., Gresele P. Mechanisms of thrombocytopenia in platelet-type von Willebrand disease. *Haematologica* 2019; 104 (7): 1473–

81. DOI: 10.3324/haematol.2018.200378
14. Othman M. Platelet-type von Willebrand disease: a rare, often misdiagnosed and underdiagnosed bleeding disorder. *Semin Thromb Hemost* 2011; 37 (5): 464–9. DOI: 10.1055/s-0031-1281030
 15. Malik M.A., Masab M. Wiskott–Aldrich Syndrome. [Updated 2022 Jun 27]. In: StatPearls [Electronic resource]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539838> (accessed 22.10.2024).
 16. Nurden A.T., Federici A.B., Nurden P. Altered megakaryocytopoiesis in von Willebrand type 2B disease. *J Thromb Haemost* 2009; 7 Suppl 1: 277–81. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03371.x
 17. Dame C., Sutor A.H. Primary and secondary thrombocytosis in childhood. *Br J Haematol* 2005; 129: 165–77. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05329.x
 18. Sato T., Hiramatsu R., Iwaoka T., Fujii Y., Shimada T., Umeda T. Changes of Platelets, Serum Lactic Dehydrogenase, γ -Glutamyltranspeptidase, Choline Esterase and Creatine Phosphokinase Levels in Patients with Cushing's Syndrome. *Tohoku J Exp Med* 1984; 142 (2): 195–200. DOI: 10.1620/tjem.142.195
 19. Chopra A., Kumar R., Kishore K., Tandon N., Yusuf T., Kumar S., et al. Effect of glucocorticoids on von Willebrand factor levels and its correlation with von Willebrand factor gene promoter polymorphism. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2012; 23 (6): 514–9. DOI: 10.1097/MBC.0b013e3283548dfc
 20. Yuan Z.H., Zhu P. [Relationship of von Willebrand factor gene single-nucleotide polymorphism with thrombosis diseases]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 2010; 18 (2): 549–52. [Chinese].
 21. Nguyen A., Repesse Y., Ebbo M., Allenbach Y., Benveniste O., Vallat J.M., et al. IVIg increases interleukin-11 levels, which in turn contribute to increased platelets, VWF and FVIII in mice and humans. *Clin Exp Immunol* 2021; 204 (2): 258–66. DOI: 10.1111/cei.13580
 22. Denis C.V., Kwack K., Saffaripour S., Maganti S., André P., Schaub R.G., Wagner D.D. Interleukin 11 significantly increases plasma von Willebrand factor and factor VIII in wild type and von Willebrand disease mouse models. *Blood* 2001; 97 (2): 465–72. DOI: 10.1182/blood.v97.2.465
 23. Ragni M.V., Novelli E.M., Murshed A., Merricks E.P., Kloos M.T., Nichols T.C. Phase II prospective open-label trial of recombinant interleukin-11 in desmopressin-unresponsive von Willebrand disease and mild or moderate haemophilia A. *Thromb Haemost* 2013; 109 (2): 248–54. DOI: 10.1160/TH12-06-0447
 24. Wang Y., Niu Z.Y., Guo Y.J., Wang L.H., Lin F.R., Zhang J.Y. IL-11 promotes the treatment efficacy of hematopoietic stem cell transplant therapy in aplastic anemia model mice through a NF- κ B/microRNA-204/thrombopoietin regulatory axis. *Exp Mol Med* 2017; 49 (12): e410. DOI: 10.1038/emm.2017.217
 25. Bonduel M., Fronthof J.P., Hepner M., Sciuccati G., Feliu-Torres A., Pieroni G. Von Willebrand disease in children: diagnosis and management of a pediatric cohort in one single center in Argentina. *Semin Thromb Hemost* 2011; 37 (5): 560–7. DOI: 10.1055/s-0031-1281043
 26. Kranzhöfer D., Pavlova A., Schneider H., Franck P., Glonnegger H., Büchsel M., et al. Type 2B von Willebrand Disease: Early Manifestation as Neonatal Thrombocytopenia. *Hamostaseologie* 2021; 41 (6): 469–74. DOI: 10.1055/a-1665-6185
 27. Chapman K., Prasad R., Mohamed S., Favalaro E.J. 2B or not 2B? A diagnosis of von Willebrand disease a lifetime of 86 years in the making. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2021; 32 (3): 229–33. DOI: 10.1097/MBC.0000000000000994
 28. Espitia O., Ternisien C., Agard C., Boisseau P., Denis C.V., Fouassier M. Use of a thrombopoietin receptor agonist in von Willebrand disease type 2B (p.V1316M) with severe thrombocytopenia and intracranial hemorrhage. *Platelets* 2017; 28 (5): 518–20. DOI: 10.1080/09537104.2016.1246717
 29. Zanon E., Pasca S., Bertomoro A., Mardari R., Simioni P. Spontaneous recurrent intracranial haemorrhage in a woman with type 2B von Willebrand disease: A clinical case and a brief literature review. *Haemophilia* 2019; 25 (4): e282–5. DOI: 10.1111/hae.13742
 30. Seidizadeh O., Baronciani L., Pagliari M.T., Cozzi G., Colpani P., Cairo A., et al. Phenotypic and genetic characterizations of the Milan cohort of von Willebrand disease type 2. *Blood Adv* 2022; 6 (13): 4031–40. DOI: 10.1182/bloodadvances.2022007216
 31. Полетаев А.В., Серёгина Е.А., Пшонкин А.В., Карамян Н.А., Фёдорова Д.В., Плясунова С.А., Жарков П.А. Мультимерный анализ фактора Виллебранда: новые диагностические возможности. *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2021; 8 (2): 35–41. DOI: 10.21682/2311-1267-2021-8-2-35-41 [Poletaev A.V., Seregina E.A., Pshonkin A.V., Karamyany N.A., Fedorova D.V., Plyasunova S.A., Zharkov P.A. Von Willebrand factor multimeric assay: novel diagnostics capabilities. *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology* 2021; 8 (2): 35–41. (In Russ.)].
 32. Fronthof J.P., Favalaro E.J. Ristocetin-Induced Platelet Aggregation (RIPA) and RIPA Mixing Studies. *Methods Mol Biol* 2017; 1646: 473–94. DOI: 10.1007/978-1-4939-7196-1_35
 33. DiGiandomenico S., Christopherson P.A., Haberichter S.L., Abshire T.C., Montgomery R.R., Flood V.H.; Zimmerman Program Investigators. Laboratory variability in the diagnosis of type 2 VWD variants. *J Thromb Haemost* 2021; 19 (1): 131–8. DOI: 10.1111/jth.15129
 34. Othman M., Favalaro E.J. 2B von Willebrand disease diagnosis: Considerations reflecting on 2021 multisociety guidelines. *Res Pract Thromb Haemost* 2021; 5 (8): e12635. DOI: 10.1002/rth2.12635
 35. Sacco M., Lancellotti S., Ferrarese M., Bernardi F., Pinotti M., Tardugno M., et al. Noncanonical type 2B von Willebrand disease associated with mutations in the VWF D'D3 and D4 domains. *Blood Adv* 2020; 4 (14): 3405–15. DOI: 10.1182/bloodadvances.202002334
 36. Jeraiby M.A., Sophie S., Caron C., Campos L., Brigitte T. Von Willebrand disease type 2B with a novel mutation in the VWF gene. *Ann Saudi Med* 2021; 41 (1): 59–61. DOI: 10.5144/0256-4947.2021.59
 37. Gindele R., Kerényi A., Kállai J., Pfliegler G., Schlamadinger Á., Szegedi I., et al. Resolving Differential Diagnostic Problems in von Willebrand Disease, in Fibrinogen Disorders, in Prekallikrein Deficiency and in Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia by Next-Generation Sequencing. *Life (Basel)* 2021; 11 (3): 202. DOI: 10.3390/life11030202
 38. Rugeri L., Harroche A., Repessé Y., Desprez D., Petesch B.P., Chamouni P., et al. Effectiveness of long-term prophylaxis using pdFVIII/VWF concentrate in patients with inherited von Willebrand disease. *Eur J Haematol* 2022; 109 (1): 109–17. DOI: 10.1111/ejh.13778
 39. Espitia O., Ternisien C., Agard C., Boisseau P., Denis C.V., Fouassier M. Use of a thrombopoietin receptor agonist in von Willebrand disease type 2B (p.V1316M) with severe thrombocytopenia and intracranial hemorrhage. *Platelets* 2017; 28 (5): 518–20. DOI: 10.1080/09537104.2016.1246717
 40. Nurden A.T., Federici A.B., Nurden P. Altered megakaryocytopoiesis in von Willebrand type 2B disease. *J Thromb Haemost* 2009; 7 Suppl 1: 277–81. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03371.x

© by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 06.11.2023

Accepted 15.10.2024



EDN: KLSENI

Correspondence:

Sally Salih Jumaa,
Department of Biology, College
of Science, University of Thi-Qar
Address: Thi-Qar, 64001, Iraq
E-mail: medicalresearch602@yahoo.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-72-77

Haptoglobin polymorphisms and their relationship to the activities of liver function enzymes in sickle cell anemia and hepatitis C patients

Sally Salih Jumaa¹, Afrah Abid Maktoof², Rasha Salih Nuhair²¹University of Thi-Qar/College of Vet. Medicine, Thi-Qar, Iraq²Department of Biology, College of Science, University of Thi-Qar, Thi-Qar, Iraq

The importance of the research lies in the fact that it aims to study the genetic polymorphisms of the haptoglobin (Hp) gene in patients with sickle cell anemia, hepatitis C, and sickle cell anemia with hepatitis C, as well as to study the relationship between the polymorphisms of the gene and the liver enzymes (alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase, and alanine transaminase). Hp is a type of alpha-2 globulin found in human plasma. Its primary function is to bind to the globin portion of free hemoglobin in the bloodstream. Objectives: Determining the genotypes of the Hp gene in patients with sickle cell anemia and hepatitis C using allele-specific polymerase chain reaction and studying the relationship between genetic polymorphisms and increased liver enzymes (alkaline phosphatase, alanine aminotransferase, and aspartate aminotransferase). This study included 130 participants. They were classified to 4 groups: patients with sickle cell anemia ($n = 40$), patients with hepatitis C ($n = 40$), sickle cell patients with hepatitis C ($n = 10$), and a control group ($n = 40$). DNA was isolated and polymerase chain reaction was performed using genotype-specific primers for the three regions of the Hp gene. The genotypes were determined after electrophoresis on agarose gel and determination of the amplified fraction of each allele. Alkaline phosphatase, alanine aminotransferase, and aspartate aminotransferase levels were measured by colorimetric methods. The results showed that the Hp2-2 genotype was more frequent in all three patient groups than the Hp1-1 or Hp2-1 genotypes. The liver enzyme levels were also significantly higher in the Hp2-2 genotype group than in the other two groups. Hp2-2 was the most prevalent Hp phenotype among the patient groups and it may play a role in the pathogenesis of sickle cell anemia and hepatitis C. The study was approved by the Research Committee of the Thi-Qar Institutional Health Department in 2022.

Key words: *polymorphism, haptoglobin gene, sickle cell diseases, hepatitis C*

Sally Salih Jumaa, et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 72–77.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-72-77

Sickle cell disease (SCD) is an inherited disorder caused by a mutation (HBB; glu(E)6valA; GAG-GTG; rs334) that produces sickle hemoglobin (HbS) [1]. Homozygosity for HbS results in sickle cell anemia (SCA), a severe disease with variable clinical presentations. There are many hypotheses about the reasons for the phenotypic diversity observed in SCA, including environmental and socio-demographic factors [2].

Viral hepatitis primarily damages the liver [3], causing chronic inflammation, fibrosis, cirrhosis, and cancer [4]. During chronic liver infections, viruses persistently manipulate host antiviral defenses and cellular pathways that impact liver homeostasis and disease progression [5].

Haptoglobin (Hp) is an acute-phase protein that binds to hemoglobin and has a genetic polymorphism due to two different alleles encoding for the alpha chain of the protein [6]. There are three phenotypes: Hp1-1, Hp2-1, and Hp2-2. The latter two phenotypes have immunoglobulin-like properties and play a role in the immune response. The effectiveness of Hp in binding hemoglobin depends on the patient's genotype,

and the Hp2-2 genotype has the lowest binding affinity, which is associated with increased cellular damage [1].

Studies have reported mixed results on the association between Hp polymorphisms and disease complications in SCA patients. Some studies suggest that the Hp1-1 genotype is protective against kidney injury and cardiovascular disease [7], while others suggest it is a risk factor for neurological or cardiovascular complications compared to the Hp2-2 genotype [1]. There is also mixed evidence on the association between Hp polymorphisms and disease complications in hepatitis C patients. Some studies suggest an association between the Hp1-1 phenotype and chronic hepatitis C [8]. Others found no significant association or even a protective effect for Hp phenotype [9].

Liver disease is a common complication of SCA and hepatitis C, caused by various factors such as intrahepatic sickling, bilirubin, gallstones, transfusion-related hepatitis infections, or excess iron deposition. There are several clinical chemistry tests that can help assess liver function, diagnose, monitor, and understand the prognosis of liver diseases.

MATERIALS AND METHODS

Patients and control groups

The study was carried out in the Labs of College of Science and Al-Hussein Teaching Hospital from June 2022 to January 2023. The samples of the patients included in this study ($n = 130$) were divided into four groups:

- the first group: 40 healthy controls;
- the second group: 40 patients with SCA;
- the third group: 40 patients with hepatitis C virus;
- the fourth group: 10 patients with SCA and with hepatitis C virus infection.

Their ages ranged from 6 to 54 years. They were randomly selected for the study.

The study was approved by the Research Committee of the Thi-Qar Institutional Health Department in 2022

Blood samples

Five mL of venous blood were taken from each patient and healthy control. Three mL of blood were collected directly in an EDTA free plain tube and allowed to clot. Then serum was separated by centrifugation. After centrifugation, serum was separated and stored at -20°C , and we measured alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT), and aspartate aminotransferase (AST) serum concentration. Two mL of blood were collected in an EDTA tube for DNA extraction using Genomic DNA extraction mini kit (Geneaid, Thailand).

DNA extraction and haptoglobin genotyping

Genomic DNA was extracted from blood isolates using Geneaid Genomic DNA Extraction Kit (Taiwan).

DNA template and polymerase chain reaction

Polymerase chain reaction (PCR) technique was used to amplify the Hp gene according to [1] and we used the following primers for the PCR technique. The primers (forward and reverse) are specified in *table 1*. The kit was provided by Geneaid Genomic DNA Extraction Kit company (Taiwan).

All samples were submitted to three reactions (1, 2, and 3) and the genotypes were defined after

Table 1

The product names, primers used, annealing temperature and the products size for the Hp gene

Name	Pb	AT	Primer name	Oligonucleotide sequence (5'-3')
Hp2	935	58	F3	CAGGAGTATACACCTTAAATG
			C42	TTACTACTGGTAGCGAACC GA
Hp1S	1200	58	C51	GCAATGATGTCACGGATATC
			S2	TTATCCACTGCTTCTCATTG
Hp1F	1400	58	F3	CAGGAGTATACACCTTAAATG
			C72	AATTTAAAATTGGCATTTCGCC

electrophoresis on a 1.5% agarose gel and identification of the amplified fragment for each allele.

Estimation of activity and concentrations of enzymes

ALP in blood serum: serum ALP activity was estimated using ready-made assay kits from the French company (Biolabo).

AST activity in blood serum: serum AST activity was estimated using ready-made assay kits from the French company (Biolabo).

ALT activity in blood serum: serum ALT activity was estimated using ready-made assay kits from the French company (Biolabo).

Statistical analysis

Data were expressed as mean \pm SD. The comparison between each patient group and the healthy control group was performed using one-way ANOVA along with a least significant difference (LSD) test to calculate the significant differences among the means of these groups. $p \leq 0.05$ was considered significant. All statistical analyses were done using a computer and the Statistical Package for Social Sciences (SPSS), version 20.

RESULTS

Molecular analysis

Frequency of Hp types in different groups

Table 2 shows the distribution of the Hp phenotypes among the patient groups and the control group. It was observed that the Hp2-2 phenotype was the most prevalent among all groups. We observed a significant increase ($p \leq 0.05$) compared with the rest of the phenotypes where the proportions were as follows: in the healthy controls - Hp1-1 (0.30), Hp2-2 (0.50), Hp2-1 (0.20), in the sickle cell patients - Hp1-1 (0.13), Hp2-2 (0.55), Hp2-1 (0.32), in the hepatitis C patients - Hp1-1 (0.13), Hp2-2 (0.63), Hp2-1 (0.24), in the sickle cell with hepatitis C patients - Hp1-1 (0.20), Hp2-2 (0.60), Hp2-1 (0.20). The results showed that there was no significant difference between the patients and healthy controls in the distribution patterns, and the Hp2-2 phenotype was the most prevalent among the cohorts.

The highest prevalence was in the group of patients with hepatitis C: Hp2-2 (0.63), compared to other groups of patients.

Biochemical study

Determination of ALP concentration and its association with haptoglobin genotypes

According to the groups

The results presented in *table 3* indicate a significant increase ($p \leq 0.05$) in the concentration

of ALP in all patients compared with the healthy control group and indicate a decrease ($p \leq 0.05$) in the concentration of ALP in the sickle cell patients with hepatitis C compared to the other patient groups.

According to haptoglobin types

According to the statistical analysis of data provided in *table 3*, the highest ($p \leq 0.05$) ALP concentration was observed in healthy controls with the Hp1-1 type.

Biochemical study

Determination of ALP concentration and its association with haptoglobin genotypes

According to the groups

The results presented in *table 3* indicate a significant increase ($p \leq 0.05$) in the concentration of ALP in all patients compared with the healthy control group and indicate a decrease ($p \leq 0.05$) in the concentration of ALP in the sickle cell patients with hepatitis C compared to the other patient groups.

According to haptoglobin types

According to the statistical analysis of data provided in *table 3*, the highest ($p \leq 0.05$) ALP concentration was observed in healthy controls with the Hp1-1 type.

Determination of AST concentration and its association with haptoglobin genotypes

According to the groups

The results presented in *table 4* indicate a significant increase ($p \leq 0.05$) in AST concentration in all patients for three types of Hp compared to the control group, and the highest significant increase was observed ($p \leq 0.05$) in the sickle cell patients with hepatitis C compared with other patient groups.

Table 3

A comparison of serum ALP concentrations in the sickle cell, hepatitis C, sickle cell with hepatitis C patients and healthy controls

Type of Hp group	Hp1-1 (M ± SD)	Hp2-2 (M ± SD)	Hp2-1 (M ± SD)	LSD
SCA	289.40 ± 36.27 Ab	314.77 ± 21.27 Aa	273.69 ± 29.99 Ac	15.88
HCV	276.20 ± 22.83 Ab	310.48 ± 15.14 Aa	274.10 ± 39.30 Ab	16.18
SCA and HCV	281.00 ± 11.41 Ab	299.00 ± 25.50 Ba	282.10 ± 21.00 Ab	13.00
Control	134.66 ± 18.228 Ba	124.80 ± 28.145 Bb	133.25 ± 20.90 Ba	5.86
LSD	15.32	17.14	9.44	

Notes. Values are expressed as mean ± SD. Different capital letters denote significant differences ($p \leq 0.05$) between the groups. Different small letters denote significant differences ($p \leq 0.05$) between the Hp types.

Table 4

A comparison of serum AST concentration in the sickle cell, hepatitis C, sickle cell with hepatitis C patients and healthy controls

Type of Hp group	Hp1-1 (M ± SD)	Hp2-2 (M ± SD)	Hp2-1 (M ± SD)	LSD
SCA	56.80 ± 4.38 Aa	57.72 ± 9.95 Aa	56.07 ± 2.60 Aa	3.92
HCV	55.40 ± 11.19 Aa	56.24 ± 12.73 Aa	54.40 ± 10.87 Aa	3.163
SCA and HCV	55.50 ± 9.19 Aa	59.00 ± 6.41 Aa	56.66 ± 8.11 Aa	4.51
Control	12.50 ± 1.87 Ca	15.60 ± 4.53 Ba	13.81 ± 2.98 Ba	2.50
LSD	3.60	5.51	7.4	

Table 2

The distribution of the Hp types and their frequency

Group	Type	Type frequency
Sickle cell patient	Hp1-1	0.13
	Hp2-2	0.55
	Hp2-1	0.32
Hepatitis C patient	Hp1-1	0.13
	Hp2-2	0.63
	Hp2-1	0.24
Sickle cell with hepatitis C patient	Hp1-1	0.20
	Hp2-2	0.60
	Hp2-1	0.20
Healthy control	Hp1-1	0.30
	Hp2-2	0.50
	Hp2-1	0.20

p value = 0.61

According to haptoglobin types

The results in *table 4* indicate an increase in AST concentration in the Hp2-2 type group among all participating groups compared to the rest of the Hp type groups, but it is not significant.

Determination of ALT concentration and its association with haptoglobin genotypes

According to the groups

The results presented in *table 5* indicate a significant increase ($p \leq 0.05$) in the ALT concentration in all patients for three types of Hp compared to the control group, and the highest significant increase was observed ($p \leq 0.05$) in the sickle cell patients with hepatitis C compared to other patient groups.

According to haptoglobin types

The statistical analysis of data provided in *table 5* shows the highest ($p \leq 0.05$) ALT concentration in the patients with the Hp2-2 type (all patient groups).

Table 5

A comparison of serum ALT concentrations in the sickle cell, hepatitis C, sickle cell with hepatitis C patients and healthy controls

Type of Hp group	Hp1-1 (M ± SD)	Hp2-2 (M ± SD)	Hp2-1 (M ± SD)	LSD
SCA	15.33 ± 7.607 Ca	17.40 ± 2.61 Ca	15.50 ± 4.041 Ca	1.92
HCV	48.20 ± 7.293 Bb	62.63 ± 13.26 Ba	47.00 ± 11.902 Bb	5.73
SCA and HCV	50.0 ± 7.582 Bb	61.64 ± 5.55 Ba	49.20 ± 14.140 Bb	4.43
Control	55.20 ± 11.41 Ab	68.00 ± 7.00 Aa	59.33 ± 17.09 Ab	5.00
LSD	3.78	5.00	4.80	

DISCUSSION

The current study is the first study showing the Hp genotype distribution among SCA, hepatitis C and SCA with hepatitis C patients in Iraq.

It revealed that the Hp2-2 genotype was the most common: it was found in 55% of SCA patients, in 63% of hepatitis C patients, and in 60% of SCA and hepatitis C patients. There were no significant differences in the distribution of the three Hp genotypes between the patients and healthy controls (table 2).

The findings are consistent with those reported by [10], who observed a higher frequency of the Hp2 genotype in SCA patients compared to the control group. Their study showed a significant difference ($p < 0.05$) in the Hp2-2 genotype frequency, with SCA patients having a higher frequency (54%) compared to sickle cell trait (42%) and healthy individuals (38%).

These results are like those obtained by [11] in Kuwaiti patients. However, these are different from those of [1] in Nigeria, they found that Hp genotype distribution among the patients and controls were Hp1-1, 43 (42.6%); Hp2-1, 40 (39.6%); Hp2-2, 18 (17.8%) and Hp1-1, 35 (54.7%); Hp2-1, 24 (37.5%); Hp2-2, 5 (7.8%), respectively, with no difference between the SCA patients and a control group ($p < 0.05$).

Hp allele frequencies exhibit notable variations across different geographical regions and ethnic groups. The Hp-1 allele frequency is found to be the lowest in Southeast Asia and the highest in Africa and South America, as reported in previous studies [12, 13]. In this study, the analysis of the Hp genotypes was performed by processing PCR products containing single nucleotide polymorphisms, which were then visualized under UV light after staining with ethidium bromide.

Hp is a protein present in both mammals and humans. In humans, Hp polymorphism results in two dominant alleles (Hp1 and Hp2) located on chromosome 16q22, leading to three genotypes: HP1-1, HP2-1, and HP2-2. The HP1-1 genotype is prevalent in Africa and Latin America but rare in Southeast Asia. Despite this, it has the highest efficiency and biological

activity in terms of binding free plasma hemoglobin and suppressing inflammation [7]. In contrast, the Hp2-2 variant has the lowest capacity to perform these functions. The Hp2-1 variant has intermediate biological and anti-inflammatory abilities compared to Hp1-1 and Hp2-2. These conclusions are supported by previous studies [11].

Hp polymorphism is recognized as a significant marker in vascular diseases and can provide protection against the development of certain complications. Although the lower antioxidant capacity and higher inflammatory response of Hp2-2 do not appear to have a significant impact on the clinical course of sickle cell disease in the patients studied, Hp polymorphism may contribute to the diverse range of clinical manifestations that are characteristic of this disease when combined with other genetic and environmental factors [4].

In this study, liver function tests in sickle cell disease patients compared to controls revealed a statistically significant difference in the activities of serum enzymes such as ALP, AST, and ALT ($p < 0.05$). These findings are consistent with previous studies conducted by [14–16].

The high activities of serum ALP observed in sickle cell patients can be due to both bone and liver complications typically associated with SCA. This finding is consistent with previous studies conducted by [9, 17] which suggest that the increased serum ALP could be due to liver ischemia, cholestasis, or vaso-occlusive crisis involving the bone.

According to the results of our study, there was a high enzyme activity of ALT in sickle cell patients, which is consistent with previous studies conducted by [18, 19]. These studies suggested that liver enlargement seen in sickle cell patients is not solely due to hepatic disease, as ALT abnormality is specific for hepatic injury. Additionally, our study found a high activity of AST in SCA patients, which may be due to the presence of sickled red blood cells in the lobular parenchyma of the liver, as suggested by [20].

Based on the results of our study, there was a statistically significant increase ($p \leq 0.05$) in ALP activity in both hepatitis C patients and SCA patients with HCV compared to the control group. This finding

is consistent with previous studies conducted by [21, 22], which also found that the high level of this enzyme in the blood may be a result of a defect or damage in the liver that leads to an increase in the enzyme in the blood or it may increase due to oxidative stress and the formation of free radicals.

The increased levels of ALP in the blood may lead to harmful structural and functional changes in liver cells, which can affect the permeability of the cell membrane and disrupt the transport of metabolites. The damage to liver cells causes the release of this enzyme into the bloodstream. Previous studies conducted by [23, 24] have shown that alkaline phosphatase is primarily associated with the plasma membrane of liver cells.

Our study found a statistically significant increase ($p \leq 0.05$) in the efficacy of AST and ALT in the patients infected with hepatitis C compared to the control group. These findings are consistent with previous studies conducted by [17, 25].

The increase in AST and ALT levels in patients infected with hepatitis C may be due to the formation of free radicals that cause peroxidation of fats in the cell membrane, resulting in changes in its permeability and destruction. This leads to the leakage of these enzymes into the bloodstream and an increase in their levels in the serum [26].

As for the other side of the study, the current results showed differences in the concentrations of liver enzymes in relation to the patient groups, distributed among the Hp patterns. Our study results support the hypothesis that individuals with certain Hp genotypes, such as Hp2-2, which are associated with very poor biological activities, may have a higher risk of complications from certain health conditions.

The results obtained from our study indicate that there were variations in the concentration of liver enzymes between different Hp types, with type 2-2 showing a greater increase in enzyme levels compared to other types.

Our study findings support previous research that suggests a link between genotype 2-2 and an increase in clinical complications, including elevated levels of liver enzymes. For instance, studies conducted by [27] found that SCA patients with the Hp2-2 genotype had significantly higher levels of ALP, ALT, and AST compared to individuals with the Hp1-1 or 2-1 genotype.

Similarly, studies have shown that patients with the Hp2-2 genotype may be more likely to experience

clinical complications than those with other Hp genotypes. For example, a study by [26] found that patients with sickle cell disease who had the Hp2-2 genotype had higher levels of ALP, ALT, and AST, which are liver enzymes that can be elevated in people with liver damage. Similarly, a study by [28] found that patients with hepatitis C who had the Hp2-2 genotype were more likely to experience clinical complications, such as liver failure. And a study by [7, 29] found that patients with non-alcoholic steatohepatitis who had the Hp2-2 genotype were also more likely to experience clinical complications, such as liver fibrosis.

It is important to note that there are also studies that report results that are contrary to our findings. For instance, studies conducted by [1, 11, 30] found no significant association between Hp genotype and liver enzyme levels in SCA patients. Additionally, a study by [31] on hepatitis C patients suggested that the Hp1-1 genotype is most strongly associated with clinical complications.

The exact mechanism by which the Hp2-2 genotype may increase the risk of clinical complications is not fully understood. However, it is thought that the Hp2-2 genotype may be associated with impaired clearance of free hemoglobin, which can lead to inflammation and oxidative stress. This can damage cells and tissues and may increase the risk of developing clinical complications.

CONCLUSION

The study found that the Hp2-2 genotype is more common in SCA, hepatitis C, and SCA with hepatitis C patients than in healthy controls. This suggests that the Hp2-2 genotype may be a risk factor for liver complications in patients with these diseases. However, more research is needed to confirm these findings and to determine the underlying mechanisms by which the Hp2-2 genotype may increase the risk of liver complications.

ACKNOWLEDGMENTS

I would like to extend my sincere thanks to the Marsh Research Center and the workers at the Center for Genetic Diseases for their contribution in facilitating the completion of this work.

FUNDING

No funding.

CONFLICT OF INTEREST

The author declares that there is no conflict of interest.

References

- Olatunya O.S., Albuquerque D.M., Santos M.N., Kayode T.S., Adekile A., Costa F.F. Haptoglobin gene polymorphism in patients with sickle cell anemia: findings from a Nigerian cohort study. *Appl Clin Genet* 2020; 8: 107–14.
- Kengne Fotsing C.B., Pieme C.A., Biapa Nya P.C., Chedjou J.P., Dabou S., Nguemeni C., et al. Relation between haptoglobin polymorphism and oxidative stress status, lipid profile, and cardiovascular risk in sickle cell anemia patients. *Health Sci Rep* 2022; 5 (1): e465.
- Al-Moussawi D.K. Correlation of HCV Infection and Creatinine Levels in Thalassemia Patients. *Thi-Qar J Sci* 2022; 9 (2): 80–3.
- Sadeghi A., Taherifard E., Dehdari Ebrahimi N., Rafiei E., Hadianfard F., Taherifard E. Effects of L-arginine supplementation in patients with sickle cell disease: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Health Sci Rep* 2023; 6 (4): e1167.
- Al-Badry B.J. Prevalence of anti-HBV antibodies in multi-transfused patients with thalassemia at Thi-Qar province. *Thi-Qar J Sci* 2014; 4 (3): 14–7.
- Willen S.M., McNeil J.B., Rodeghier M., Kerchberger V.E., Shaver C.M., Bastarache J.A., et al. Haptoglobin genotype predicts severe acute vaso-occlusive pain episodes in children with sickle cell anemia. *Am J Hematol* 2020; 95 (4): E92.
- Zhou J., Liu J., Sheng H., You N., Chen J., Mi X., et al.; Chinese NAFLD Clinical Research Network (CNAFLD CRN). Haptoglobin 2-2 Genotype is Associated with More Advanced Disease in Subjects with Non-Alcoholic Steatohepatitis: A Retrospective Study. *Adv Ther* 2019; 36 (4): 880–95.
- Wang Y., Kinzie E., Berger F.G., Lim S.K., Baumann H. Haptoglobin, an inflammation-inducible plasma protein. *Redox Rep* 2001; 6 (6): 379–85.
- Kingsley D.A., Ofem E., Basse O.B., Oluwakorede B., Riman O. Biochemical Assessment of the Liver in SCD in a Tertiary Hospital in South-South, Nigeria. *J Adv Med Res* 2019; 29 (7): 48624.
- Jain S.K., Pemberton P.W., Smith A., McMahon R.F.T., Burrows P.C., Aboutwerat A., Warnes T.W. Oxidative stress in chronic hepatitis C: not just a feature of late stage disease. *J Hepatol* 2002; 36 (6): 805–11.
- Adekile A.D., Haider M.Z. Haptoglobin gene polymorphisms in sickle cell disease patients with different β S-globin gene haplotypes. *Med Princ Pract* 2010; 19 (6): 447–50.
- Louagie H.K., Brouwer J.T., Delanghe J.R., De Buyzere M.L., Leroux-Roels G.G. Haptoglobin polymorphism and chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1996; 25 (1): 10–4.
- Adekile A.D., Haider M.Z. Haptoglobin gene polymorphisms in sickle cell disease patients with different β S-globin gene haplotypes. *Med Princ Pract* 2010; 19 (6): 447–50.
- Van Vlierberghe H., Delanghe J.R., De Bie S., Praet M., De Paepe A., Messiaen L., et al. Association between Cys282Tyr missense mutation and haptoglobin phenotype polymorphism in patients with chronic hepatitis C. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13 (9): 1077–81.
- Kamble C.G., Ivvala A.S., Gamit D., Malapati B. Serum glutamic oxaloacetic transaminase and serum glutamic pyruvic transaminase variations with their Pearson's coefficient correlation in sickle cell disease. *J Med Sci Res* 2022; 10 (1): 25–9.
- Kasvosve I., Speeckaert M.M., Speeckaert R., Masukume G., Delanghe J.R. Haptoglobin polymorphism and infection. *Adv Clin Chem* 2010; 50: 23–46.
- Kumar A., Siddiqi N.J., Alrashood S.T., Khan H.A., Dubey A., Sharma B. Protective effect of eugenol on hepatic inflammation and oxidative stress induced by cadmium in male rats. *Biomed Pharmacother* 2021; 139: 111588.
- Ruiz M.A., Shah B.N., Ren G., Husain F., Njoku F., Machado R.F., et al. Haptoglobin 1 allele predicts higher serum haptoglobin concentration and lower multiorgan failure risk in sickle cell disease. *Blood Adv* 2022; 6 (24): 6242–8.
- Saadon A.A. Prevalence of viral hepatitis B and C among selected group in Thi-Qar. *Thi-Qar J Med* 2012; 6 (1): 79–89.
- Öksüz Z., Üçbilek E., Sami Serin M., Yaraş S., Örekici Temel G., Sezgin O. hsa-miR-17-5p: A Possible Predictor of Ombitasvir/Paritaprevir/Ritonavir plus Dasabuvir +/- Ribavirin Therapy Efficacy in Hepatitis C Infection. *Curr Microbiol* 2022; 79: 186.
- Nakagawa T., Muramoto Y., Hori M., Mihara S., Marubayashi T., Nakagawa K. A preliminary investigation of the association between haptoglobin polymorphism, serum ferritin concentration and fatty liver disease. *Clinica Chimica Acta* 2008; 398 (1–2): 34–8.
- Philippe M.A., Ruddell R.G., Ramm G.A. Role of iron in hepatic fibrosis: one piece in the puzzle. *World J Gastroenterol* 2007; 13 (35): 4746.
- Johnkennedy N., Odera N.C., Muodebe N.C. Pattern of hepatic enzymes profile in sickle cell disease patients attending Madonna University Teaching Hospital (MUTH). *Asian J Res Biol* 2022; 5 (1): 34–8.
- Louagie H.K., Brouwer J.T., Delanghe J.R., De Buyzere M.L., Leroux-Roels G.G. Haptoglobin polymorphism and chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1996; 25 (1): 10–4.
- Ooi K., Shiraki K., Morishita Y., Nobori T. High-molecular intestinal alkaline phosphatase in chronic liver diseases. *J Clin Lab Anal* 2007; 21 (3): 133–9.
- Reda F.M., El-Saadony M.T., El-Rayes T.K., Attia A.I., El-Sayed S.A., Ahmed S.Y., et al. Use of biological nano zinc as a feed additive in quail nutrition: biosynthesis, antimicrobial activity and its effect on growth, feed utilization, blood metabolites and intestinal microbiota. *Italian J Animal Sci* 2021; 20 (1): 324–35.
- Mohamed A.A., Omar A.A., El-Awady R.R., Hassan S.M., Eitah W.M., Ahmed R., et al. MiR-155 and MiR-665 role as potential non-invasive biomarkers for hepatocellular carcinoma in Egyptian patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Transl Int Med* 2020; 8 (1): 32–40.
- Meher S., Mohanty P.K., Patel S., Das K., Sahoo S., Dehury S., et al. Haptoglobin genotypes associated with vaso-occlusive crisis in sickle cell anemia patients of Eastern India. *Hemoglobin* 2021; 45 (6): 358–64.
- Obi C., Aladeyelu O., Agbiogwu I., Agu C.N., Arusiwon J.A., Udeh M.O. Enzyme activities of liver function (Bio-makers) in sickle cell anaemic patients attending Sickle Cell Anaemic Centre, Benin City, Edo State, Nigeria. *Int J Blood Res Disord* 2020; 7 (2): 1–5.
- Cox S.E., Makani J., Soka D., L'Esperance V.S., Kija E., Dominguez-Salas P., et al. Haptoglobin, alpha-thalassaemia and glucose-6-phosphate dehydrogenase polymorphisms and risk of abnormal transcranial Doppler among patients with sickle cell anaemia in Tanzania. *Br J Haematol* 2014; 165 (5): 699–706.
- Wan B.N., Zhou S.G., Wang M., Zhang X., Ji G. Progress on haptoglobin and metabolic diseases. *World J Diabetes* 2021; 12 (3): 206–14.

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 20.02.2024
Принята к печати 01.10.2024



EDN: KWWTEE

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-78-83

Определение оптимальных условий экспансии мезенхимальных стволовых клеток костного мозга человека с помощью оборудования для прижизненного мониторинга состояния культур клеток

А.А. Дудорова, М.В. Ефименко, Р.Д. Хисматуллина, М.А. Масчан, И.Н. Казьмина, М.А. Илюшина, Е.Ю. Осипова

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

По результатам проведенного исследования выработаны рекомендации по составу среды для экспансии мезенхимальных стволовых клеток (МСК) костного мозга человека для доклинических исследований и возможного клинического применения – наиболее эффективной является среда ALPHA-MEM с добавлением 10% лизата тромбоцитов. Варианты сред на основе DMEM с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки оказались менее эффективны – доля конфлюэнтности достигала максимального значения 0,8 через 80 ч культивирования, тогда как конфлюэнтность культур МСК в средах StemMACS и ALPHA-MEM с добавлением лизата тромбоцитов продолжала возрастать и через 100 ч после начала экспансии. Среда на основе RPMI-1640 достоверно хуже других использованных сред поддерживала рост МСК. При культивировании МСК в средах с содержанием глюкозы 4,5 г/л доля клеток с жировой трансформацией через 5 сут выше, чем при культивировании в условиях содержания глюкозы 1,0 г/л – DMEM low gl, StemMacs, ALPHA-MEM. Использование для экспансии МСК сред, не индуцирующих спонтанную адипогенную дифференцировку, предпочтительнее для потенциального применения МСК в клинических целях, поскольку клетки остаются некоммутированными и их дифференцировочный потенциал может быть реализован в зависимости от задач дальнейшего исследования и/или клинических потребностей при их применении. Настоящее исследование поддержано локальным этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие по утвержденной форме с возможностью использования части материала для исследовательских целей.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, экспансия клеток, среда культивирования, адипогенная дифференцировка, лизат тромбоцитов, конфлюэнтность

Дудорова А.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 78–83. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-78-83

Identification of optimal conditions for the expansion of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells using tools for live-cell culture monitoring

A.A. Dudorova, M.V. Efimenko, R.D. Khismatullina, M.A. Maschan, I.N. Kazmina, M.A. Ilyushina, E.Yu. Osipova

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

Based on the results of our study, we have developed recommendations regarding cell culture media composition for the expansion of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSC) for preclinical studies and potential clinical applications. ALPHA-MEM supplemented with 10% platelet lysate proved to be the most effective culture medium. Different DMEM media supplemented with fetal bovine serum turned out to be less effective: a maximum of 80% confluence was reached after 80 hours of culture, while MSC confluence in StemMACS and ALPHA-MEM media supplemented with platelet lysate kept increasing even after 100 hours of expansion. The growth rate of MSCs in RPMI-1640 medium was significantly lower than in the other culture media. When culturing MSCs in media with high glucose concentration (4.5 g/L), the percentage of cells with fat transformation after 5 days of culture was higher than in low-glucose (1.0 g/L) media such as DMEM low gl, StemMacs, ALPHA-MEM. It is preferable to use MSC expansion media that do not induce spontaneous adipogenic differentiation for culturing MSCs for clinical purposes because the cells remain uncommitted and all their differentiation potential can be used in accordance with the objectives of further research and/or clinical needs. This study was supported by the local Ethics Committee and approved by 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. All the participants signed the standard informed consent form and agreed to the use of some of their biological materials for research purposes.

Key words: mesenchymal stem cells, cell expansion, culture media, adipogenic differentiation, platelet lysate, confluence

Dudorova A.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 78–83. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-78-83

Контактная информация:

Осипова Елена Юрьевна,
заведующая лабораторией физиологии и
патологии стволовых клеток
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: e_ossipova@mail.ru

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 20.02.2024
Accepted 01.10.2024

Correspondence:

Elena Yu. Osipova,
Head of the Laboratory of Physiology
and Pathology of Stem Cells 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: e_ossipova@mail.ru

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) впервые были обнаружены в 1968 г. А. J. Friedenstein и соавт. [1] в костном мозге (КМ) как популяция адгезирующих фибробластов, способная дифференцироваться в костную ткань. Далее было показано, что МСК можно выделить из жировой ткани, плаценты, ткани пупочного канатика, пульпы зуба [2]. МСК обладают способностью к экспансии *in vitro*, которая позволяет им быстро достигать достаточного количества для клинического применения *in vivo* [3]. МСК имеют большой терапевтический потенциал из-за их способности к самообновлению и дифференцировке в различные ткани, включая остеобласты, адипоциты, хондроциты, миоциты, нейроны, глиальные клетки и гепатоциты при определенных условиях [3–7]. В ряде исследований было продемонстрировано, что МСК способны подавлять пролиферацию Т-лимфоцитов *in vitro* и угнетать дифференцировку дендритных клеток и таким образом оказывать иммуносупрессивное действие [8–10]. Это свойство МСК используется в трансплантологии для подавления реакции «трансплантат против хозяина». На сегодняшний день база данных клинических исследований ClinicalTrials.gov содержит 12 107 исследований с использованием МСК в качестве терапевтической опции при многих клинических проблемах. Большинство исследований с использованием МСК относится к I фазе (исследование безопасности), II фазе (доказательство эффективности у человека) или их комбинации. Пока выполнено очень небольшое количество исследований III фазы с применением МСК (сравнение нового метода терапии со стандартными подходами) [9, 11]. В настоящее время в Российской Федерации имеются большой научный потенциал и потребность в разработке биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) и высокотехнологических лекарственных препаратов на основе соматических клеток. Одним из перспективных направлений в гематологии, онкологии и регенеративной медицине является создание БМКП и высокотехнологических лекарственных препаратов на основе МСК [3, 4, 8–12].

Несмотря на многолетний опыт в области культивирования МСК в целях последующего клинического применения, существует ряд нерешенных принципиальных вопросов, касающихся стандартизации процессов экспансии:

- использование сред для культивирования, позволяющих достичь эффективной экспансии МСК за возможно более короткие сроки;
- отказ от применения при культивировании МСК ксеногенных сывороток и добавок к средам;
- сохранение дифференцировочного потенциала МСК в процессе культивирования.

Целью настоящего исследования являлось определение оптимальных условий культивирования МСК из образцов КМ человека в зависимости от состава инкубационных сред.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование поддержано локальным этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие по утвержденной форме с возможностью использования части материала для исследовательских целей.

Образцы КМ были получены от 5 здоровых взрослых доноров в рамках стандартной процедуры забора КМ в соответствии с рекомендациями и критериями, представленными в Приказе Министерства здравоохранения Российской Федерации от 12 декабря 2018 г. №875н, в количестве, необходимом для трансплантации, которое составляет 20–30 мл/кг массы тела пациента, но не более 20 мл/кг массы тела донора. Для настоящего исследования использовали 50–100 мл КМ, но не более 10% от общего количества забранного материала.

Из образцов КМ были получены культуры МСК в соответствии с принятой в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева технологией [13] – клетки культивировали в среде AlphaMEM с добавлением 10% лизата тромбоцитов в течение 4 пассажей, затем аликвоты клеток по 1 млн были помещены в криохранилище. Все полученные в результате экспансии культуры соответствовали критериям, предъявляемым к МСК [14, 15]. После извлечения из криохранилища образцы МСК культивировали в различных средах, оценивали долю конфлюэнтности монослоя клеток, время удвоения количества клеток, способность МСК к спонтанной адипогенной дифференцировке.

Для определения оптимального состава среды для эффективной экспансии МСК КМ использовали следующие культуральные среды:

- ALPHA-MEM (HiMedia, Индия) + 10% лизата тромбоцитов;
- StemMACS MSC Expansion Media (Miltenyi Biotec, Германия);
- DMEM low Glucose (Servicebio, Китай) + 10% эмбриональная телячья сыворотка (ЭТС) (StemCell, Канада);
- DMEM high Glucose (Servicebio, Китай) + 10% ЭТС (StemCell, Канада);
- RPMI1640 (Capricorn, Германия) + 10% ЭТС (StemCell, Канада).

Лизат тромбоцитов был изготовлен в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в лаборатории физиологии

и патологии стволовых клеток совместно с отделением трансфузиологии в соответствии с протоколом компании MacoPharma [16, 17].

Исследование динамики экспансии образцов МСК проводили с помощью следующих приборов:

- RTCA xCelligence (Agilent, США). Данный прибор в режиме реального времени детектирует электрическое сопротивление в лунке специального многолуночного планшета со встроенными электродами, что позволяет получить график зависимости индекса прироста клеток от времени;

- Image ExFluorer компании LCI (Live Cell Instruments, Южная Корея). Этот прибор позволяет оценить не только динамику роста, но и направление дифференцировки образцов МСК в зависимости от состава среды. Культивирование проводили в 24-луночном планшете NEST для адгезивных культур в инкубационной камере прибора в течение 5 сут с интервалом съемки 10 ч, в фазовом контрасте либо во флуоресцентном режиме (для оценки адипогенной дифференцировки).

Плотность эксплантации клеток для проведения исследований с помощью обоих приборов соответствовала плотности, используемой в процессе экспансии продукта МСК и составляла 6600 клеток/см².

После завершения экспериментов данные обрабатывали с использованием программного обеспечения к приборам.

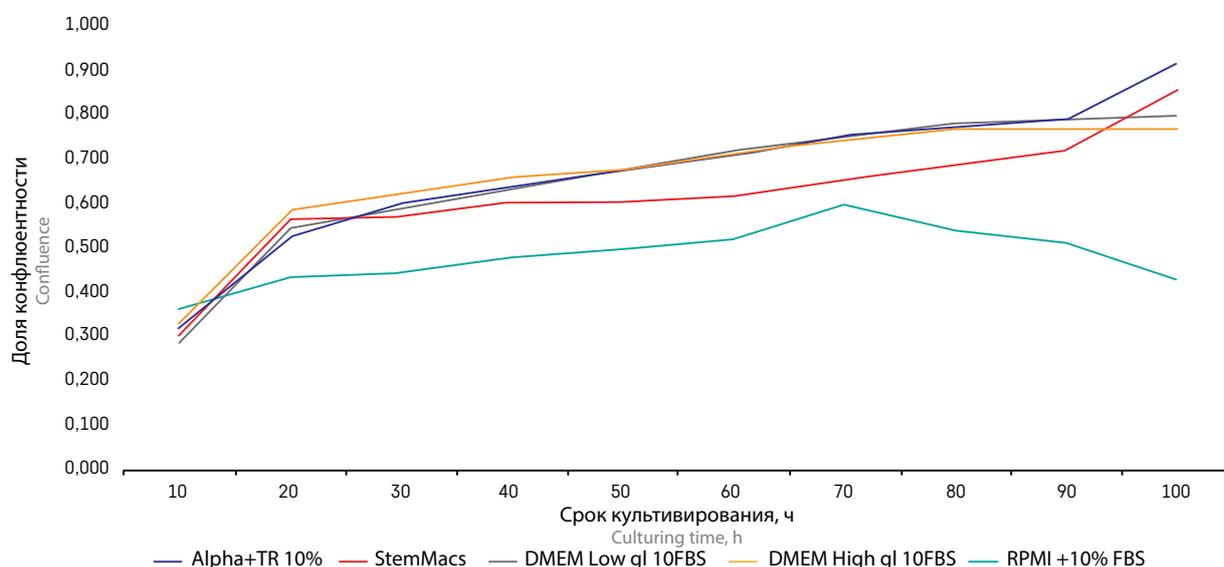
Анализ проводился с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни с уровнем статистической значимости $p < 0,05$. Для всех расчетов была использована программа Statistica 10.0.

Рисунок 2

Динамика роста образцов МСК в зависимости от состава среды культивирования (медиана; $n = 5$)

Figure 2

Growth kinetics of mesenchymal stem cell (MSC) samples in different culture media (median; $n = 5$)



РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Образцы МСК КМ после извлечения из криохранилища культивировали в различных средах и оценивали долю конfluenceности монослоя клеток.

На *рисунке 1* представлен пример обработки изображения монослоя МСК на приборе Image ExFluorer через 48 ч после эксплантации клеток.

Результаты определения доли конfluenceности монослоя МСК в зависимости от использованных сред представлены на *рисунке 2*.

Из приведенных данных видно, что среды StemMACS и ALPHA-MEM с добавлением лизата тромбоцитов наиболее эффективны для культивирования МСК. Достоверных различий в эффективности роста между этими средами получено не было ($p = 0,43$). Варианты сред на основе DMEM оказались незначительно менее эффективны для экспансии МСК ($p > 0,05$). Доля конfluenceности в культурах со средами на основе DMEM достигала максимального значения 0,8 к 80 ч культивирования (3–4 сут), тогда как в средах StemMACS и ALPHA-MEM с добавлением лизата тромбоцитов продолжала возрастать и

Рисунок 1

Пример оценки доли конfluenceности при помощи программного обеспечения к прибору Image ExFluorer. Объектив $\times 10$

Figure 1

An example of cell confluence analysis using the Image ExFluorer software. Objective lens $\times 10$



через 100 ч после начала экспансии. Среда на основе RPMI плохо поддерживала рост МСК. После культивирования в течение 70 ч в среде RPMI наблюдалась гибель клеток. Достоверность различий эффективности роста МСК составила:

- RPMI – ALPHA-MEM: $p = 0,017$;
- RPMI – StemMACS: $p = 0,019$.

Помимо анализа динамики культур МСК в фазовом контрасте были поставлены эксперименты по оценке морфологии культур с использованием флуоресцентной микроскопии, для этого МСК окрашивали зеленым трекером CSFE (канал флуоресценции 488 nm). Окраска проводилась в соответствии с инструкциями производителя (MERCK). В связи с тем, что при мониторинге флуоресцентного сигнала от культур МСК с частотой 1 раз/10 ч в течение 4 сут жизнеспособность клеток резко снижается из-за регулярного воздействия лазерного излучения, в данной серии экспериментов анализ проводился в конечной точке через 90–96 ч культивирования.

Примеры морфологии культур МСК на 4-е сутки после пассажа при окраске CSFE представлены на *рисунке 3* и подтверждают приведенные выше данные о большей эффективности сред StemMACS и ALPHA-MEM для экспансии МСК.

Лучшая эффективность сред StemMACS и ALPHA-MEM для экспансии МСК была также подтверждена в экспериментах по определению кинетики роста культур клеток импедансным методом с помощью прибора RTCA xCelligence. Самое быстрое удвоение количества клеток происходило при культивировании МСК в указанных средах. Было подтверждено, что использование среды RPMI для экспансии МСК неэффективно, процессы дегенерации клеток преобладают над пролиферацией и удвоения клеток в этих культурах достигнуто не было. Данные представлены на *рисунке 4*.

В отличие от клеточного имиджера Image ExFluorer, RTCA xCelligence не позволяет получать прижизненные изображения исследуемых культур, но эффективен в изучении кинетики адгезивных клеток в зависимости от условий культивирования, позволяя одновременно исследовать до 30 вариантов культур с минимальным расходом сред.

Использование прибора прижизненного наблюдения за состоянием культур клеток Image

ExFluorer позволяет оценить способность МСК спонтанно дифференцироваться в адипогенном направлении. Для этого были поставлены эксперименты с флуоресцентным окрашиванием МСК зеленым трекером CSFE (канал флуоресценции 488 nm), а жировых включений – красителем NILE RED (канал флуоресценции 553 nm). Культивирование проводили в отсутствие в среде дополнительных индукторов адипогенной дифференцировки в течение 100 ч, оценивали результаты в конечной точке с помощью программного обеспечения к прибору.

Результаты исследования позволяют сделать вывод, что при культивировании МСК в среде с содержанием глюкозы 4,5 г/л (среды DMEM high gl, RPMI1640) медиана доли клеток с жировой трансформацией через 5 сут культивирования выше, чем при культивировании в условиях содержания глюкозы 1,0 г/л (DMEM low gl, StemMacs, ALPHA-MEM). Результаты представлены на *рисунке 5* и в *таблице*. При культивировании МСК в среде RPMI в отсутствие значимой экспансии клеток происходит их адипогенная трансформация и накопление жировых включений.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническое применение МСК развивается быстрыми темпами как в трансплантологии – для улучшения приживления гемопоэтических клеток, снижения степени реакции «трансплантат против хозяина», так и при лечении болезней обмена. В связи с этим появляется потребность в производстве БМКП МСК, культивированных с соблюдением стандартных протоколов с применением максимально безопасных реагентов для экспансии клеток [18–20].

В последние годы ассортимент реагентов для экспансии БМКП значительно изменился в связи с выходом на рынок огромного количества биотехнологических компаний из Юго-Восточной Азии. Это делает актуальным проведение скрининга предлагаемых реагентов для разработки эффективных протоколов производства БМКП МСК. Использование приборов прижизненного мониторинга состояния клеточных культур позволяет в короткие сроки при

Рисунок 3
Морфология культур МСК КМ при окрашивании CSFE (90 ч культивирования). Объектив $\times 10$

Figure 3
Morphology of bone marrow-derived MSC cultures stained with CSFE (90 hours of culture). Objective lens $\times 10$

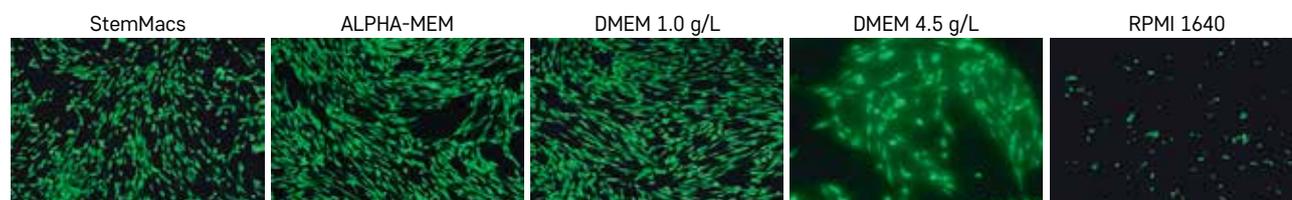
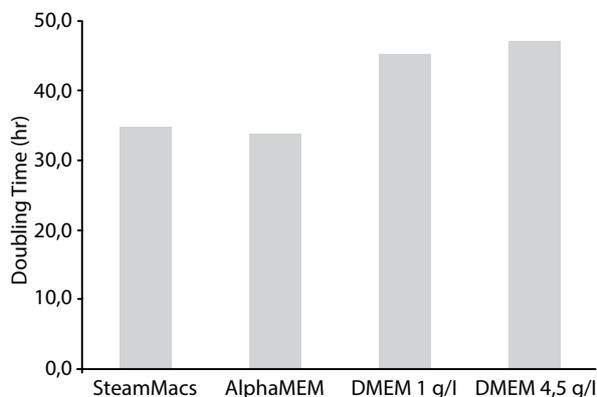


Рисунок 4

Результаты определения времени удвоения (Doubling Time) клеток в культурах МСК в зависимости от использованных сред (медиана; $n = 5$)

Figure 4

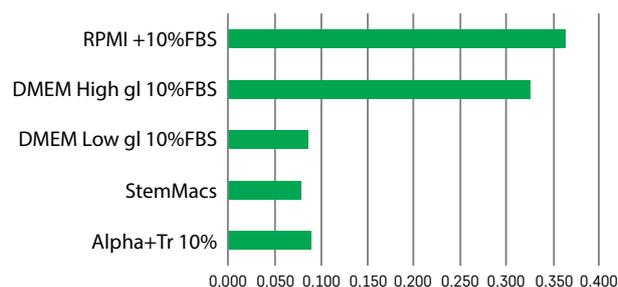
The doubling time of MSCs according to the culture media (the median; $n = 5$)

**Рисунок 5**

Доля МСК с жировыми включениями через 100 ч культивирования в зависимости от среды (медиана; $n = 5$)

Figure 5

The proportion of MSCs with fatty inclusions after 100 hours of culture according to the media (the median; $n = 5$)

**Таблица**

Достоверность различий содержания жировых включений в МСК в условиях культивирования в средах с различным содержанием глюкозы

Table

The significance of differences between the proportions of fatty inclusions in MSCs cultured in the media with different glucose concentration

Среда культивирования Culture medium	DMEM high gl	RPMI1640
ALPHA-MEM	$p = 0,021$	$p = 0,022$
StemMacs	$p = 0,014$	$p = 0,016$
DMEM low gl	$p = 0,011$	$p = 0,013$

небольшом расходе реагентов провести отбор наиболее эффективных сред для экспансии МСК в зависимости от целей проводимых исследований [21, 22].

Использование различных реагентов в протоколах экспансии МСК приводит к различиям в характеристиках конечного продукта [23, 24]. В последние годы достигнут значительный прогресс в производстве эффективных сред для культивирования МСК, которые не содержат потенциально опасных ксеногенных продуктов [23]. По мнению большинства исследователей, использование для экспансии МСК сред для культивирования с меньшей способностью к индукции спонтанной адипогенной дифференцировки предпочтительнее при производстве БМКП, поскольку клетки остаются некоммитированными и их дифференцировочный потенциал может быть реализован в зависимости от задач дальнейшего исследования и/или клинических потребностей при их применении [23, 25, 26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наши исследования подтверждают такой подход к производству БМКП. Так, ALPHA-MEM с добавлением 10% лизата тромбоцитов позволяет в кратчайшие сроки достичь значительной экспансии МСК, не содержит ксеногенных продуктов, не вызывает спонтанной жировой трансформации культивируемых клеток и может быть рекомендована для экспансии МСК в возможных клинических целях.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Dudorova A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9444-4689>

Efimenko M.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3001-4820>

Khismatullina R.D. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5618-7159>

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

Kazmina I.N. ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-0448-504X>

Ilyushina M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7652-7704>

Osipova E.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1873-3486>

Литература / References

- Friedenstein A.J., Petrakova K.V., Kurolesova A.I., Frolova G.P. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues. *Transplantation* 1968; 6 (2): 230–47.
- Kulus M., Sibiak R., Stefanska K., Zdun M., Wieczorkiewicz M., Piotrowska-Kempisty H., et al. Mesenchymal Stem/Stromal Cells Derived from Human and Animal Perinatal Tissues – Origins, Characteristics, Signaling Pathways, and Clinical Trials. *Cells* 2021; 10 (12): 3278.
- Lazarus H.M., Haynesworth S.E., Gerson S.L., Rosenthal N.S., Caplan A.I. *Ex vivo* expansion and subsequent infusion of human bone marrow-derived stromal progenitor cells (mesenchymal progenitor cells): implications for therapeutic use. *Bone Marrow Transplant* 1995; 16 (4): 557–64.
- Golpanian S., Wolf A., Hatzistergos K., Hare J.M. Rebuilding the damaged heart: mesenchymal stem

- cells, cell-based therapy, and engineered heart tissue. *Physiol Rev* 2016; 96 (3): 1127–68.
5. Hoang D.M., Pham P.T., Bach T.Q., Ngo A.T., Nguyen Q.T., Phan T.T., et al. Stem cell-based therapy for human diseases. *Signal Transduct Target Ther* 2022; 7 (1): 1–41.
 6. Zhou L., Zhu H., Bai X., Huang J., Chen Y., Wen J., et al. Potential mechanisms and therapeutic targets of mesenchymal stem cell transplantation for ischemic stroke. *Stem Cell Res Ther* 2022; 13 (1): 195–210.
 7. Han H.T., Jin W.L., Li X. Mesenchymal stem cells-based therapy in liver diseases. *Mol Biomed* 2022; 3 (1): 23–74.
 8. Gavin C., Boberg E., Von Bahr L., Bottai M., Andr n A.T., Wernerson A., et al. Tissue immune profiles supporting response to mesenchymal stromal cell therapy in acute graft-versus-host disease – a gut feeling. *Stem Cell Res Ther* 2019; 10: 334–40.
 9. Dabrowska S., Andrzejewska A., Janowski M., Lukomska B. Immunomodulatory and regenerative effects of mesenchymal stem cells and extracellular vesicles: therapeutic outlook for inflammatory and degenerative diseases. *Front Immunol* 2021; 11: 1–26.
 10. Ciervo Y., Ning K., Jun X., Shaw P.J., Mead R.J. Advances, challenges and future directions for stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis. *Mol Neurodegener* 2017; 12 (1): 85–107.
 11. Leyendecker J.A., Gomes Pinheiro C.C., Amano M.T., Franco Bueno D. The use of human mesenchymal stem cells as therapeutic agents for the *in vivo* treatment of immune-related diseases: a systematic review. *Front Immunol* 2018; 9: 1–51.
 12. Re F., Borsani E., Rezzani R., Sartore L., Russo D. Bone regeneration using mesenchymal stromal cells and biocompatible scaffolds: A concise review of the current clinical trials. *Gels* 2023; 9 (5): 389–404.
 13. Николаева Ю.А., Скоробогатова Е.В., Киргизов К.И., Пристанскова Е.А., Благонравова О.Л., Осипова Е.Ю. и др. Внутрикостное введение мезенхимальных стволовых клеток в терапии рефрактерной реакции «трансплантат против хозяина» с гипопункцией трансплантата. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского* 2019; 98 (4): 8–14. [Nikolaeva Yu.A., Skorobogatova E.V., Kirgizov K.I., Pristanskova E.A., Blagonravova O.L., Osipova E.U., et al. Intraosseous infusion of mesenchymal stem cells in treatment of graft-versus-host refractory response with graft hypofunction. *Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky* 2019; 98 (4): 8–14. (In Russ.)].
 14. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F.C., Krause D.S., et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8 (4): 315–7.
 15. Mushahary D., Spittler A., Kasper C., Weber V., Charwat V. Isolation, cultivation and characterization of human mesenchymal stem cells. *Cytometry A* 2018; 93 (1): 19–31.
 16. Viau S., Lagrange A., Chabrand L., Lorant J., Charrier M., Rouger K., et al. A highly standardized and characterized human platelet lysate for efficient and reproducible expansion of human bone marrow mesenchymal stromal cells. *Cytotherapy* 2019; 21 (7): 738–54.
 17. Шаманская Т.В., Осипова Е.Ю., Румянцев С.А. Технологии культивирования мезенхимальных стволовых клеток *ex vivo* для клинического применения. *Онкогематология* 2009; (3): 69–77. DOI: 10.17650/1818-8346-2009-0-3-69-76 [Shamanskaya T.V., Osipova E.Yu., Roumiantsev S.A. Mesenchymal stem cells *ex vivo* cultivation technologies for clinical use. *Oncohematology* 2009; (3): 69–76. (In Russ.)].
 18. Астахова Н.М., Корель А.В., Кирилова И.А. Разработка протоколов выделения, культивирования и типирования мезенхимальных стволовых клеток из костного мозга человека. *Гены и клетки* 2017; 12 (3): 128. [Astakhova N.M., Korel A.V., Kirilova I.A. The development of protocols for isolation, culture and differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Genes and Cells* 2017; 12 (3): 128. (In Russ.)].
 19. Wong C.W., Han H.W., Hsu S.H. Changes of cell membrane fluidity for mesenchymal stem cell spheroid on biomaterial surfaces. *World J Stem Cells* 2022; 14 (8): 616–32.
 20. Jakl V., Popp T., Haupt J., Port M., Roesler R., Wiese S. Effect of expansion Media on functional characteristics of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *Cells* 2023; 12 (16): 2105–36.
 21. Toth G., Szollosi J., Vereb G. Quantitating ADCC against adherent cells: impedance based detection is superior to release, membrane permeability, or caspase activation assays in resolving antibody dose response. *Cytometry A* 2017; 91 (10): 1021–9.
 22. He L., Li M., Wang X., Wu X., Yue G., Wang T., et al. Morphology-based deep learning enables accurate detection of senescence in mesenchymal stem cell cultures. *BMC Biol* 2024; 22 (1): 1–17.
 23. Parvin Nejad S., Lecce M., Mirani B., Machado Siqueira N., Mirzaei Z., Santerre J.P., et al. Serum- and xeno-free culture of human umbilical cord perivascular cells for pediatric heart valve tissue engineering. *Stem Cell Res Ther* 2023; 14 (1): 96–111.
 24. Even K.M., Gaesser A.M., Ciamillo S.A., Linardi R.L., Ortved K.F. Comparing the immunomodulatory properties of equine BM-MSC culture expanded in autologous platelet lysate, pooled platelet lysate, equine serum and fetal bovine serum supplemented culture media. *Front Vet Sci* 2022; 25 (9): 1–14.
 25. Fitzgerald J.C., Shaw G., Murphy J.M., Barry F. Media matters: culture medium-dependent hypervariable phenotype of mesenchymal stromal cells. *Stem Cell Res Ther* 2023; 14 (1): 363–78.
 26. Altrock E., Sens-Albert C., Hofmann F., Riabov V., Schmitt N., Xu Q., et al. Significant improvements of bone marrow-derived MSC expansion from MDS patients by defined xeno-free medium. *Stem Cell Res Ther* 2023; 14 (1): 156–64.

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 20.02.2024
Принята к печати 03.10.2024



EDN: LMFUDK

Контактная информация:

Ходкевич Полина Евгеньевна,
врач-неонатолог отделения патологии
новорожденных ОГАУЗ «Детская больница
№1»; ассистент кафедры факультетской
педиатрии с курсом детских болезней
лечебного факультета ФГБОУ ВО СибГМУ
Минздрава России
Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, 2
E-mail: pkhodkevich@mail.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-84-89

Особенности гематологических показателей у недоношенных новорожденных в раннем детском возрасте

П.Е. Ходкевич^{1,2}, О.С. Федорова², К.В. Куликова³, И.А. Деев⁴

¹ОГАУЗ «Детская больница №1», Томск

²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск

³ОГАУЗ «Областной перинатальный центр им. И.Д. Евтушенко», Томск

⁴ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Цель исследования: установить особенности основных гематологических показателей (количество тромбоцитов, эритроцитов, лейкоцитов, уровень гемоглобина) у недоношенных детей в раннем детском возрасте в зависимости от массы тела при рождении. Исследование одобрено локальным этическим комитетом (протокол №7937 от 28.10.2019) и утверждено решением ученого совета ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Томск). В исследование были включены данные 302 детей, рожденных в 2014–2020 гг. в Томске. Критерии включения в основную группу исследования: недоношенные новорожденные с массой тела при рождении менее 2500 г. Основная группа ($n = 226$) стратифицирована в зависимости от массы тела при рождении на 3 подгруппы: с низкой ($n = 78$), очень низкой ($n = 76$) и экстремально низкой ($n = 72$) массой тела. Критерии включения в группу контроля ($n = 76$): здоровые доношенные дети с массой тела при рождении более 2500 г. В ходе катamnестического наблюдения в течение первых 3 лет жизни произведена оценка общего анализа крови: уровень гемоглобина (г/л), количество эритроцитов ($\times 10^{12}/л$), лейкоцитов ($\times 10^9/л$) и тромбоцитов ($\times 10^9/л$) в раннем неонатальном периоде (первичное обследование в первые сутки жизни), в возрасте 1, 2 и 3 лет. В результате исследования установлена зависимость показателей общего анализа крови от массы тела при рождении с первых суток жизни и до 3 лет. В неонатальном периоде выявлена прямая корреляционная связь между массой тела при рождении и количеством эритроцитов ($r = 0,428$; $p < 0,001$), уровнем гемоглобина ($r = 0,137$; $p = 0,029$) и количеством тромбоцитов ($r = 0,453$; $p < 0,001$). Дети с экстремально низкой массой тела при рождении в первые сутки жизни имели статистически значимо более низкие показатели количества эритроцитов ($3,92 (3,51-4,27) \times 10^{12}/л$), тромбоцитов ($171,5 (133-229) \times 10^9/л$) и уровня гемоглобина ($156 (142-172) г/л$), чем дети из других подгрупп. В раннем детском возрасте установлены обратная корреляционная связь между уровнем гемоглобина и массой тела при рождении и прямая корреляционная связь между количеством тромбоцитов и массой тела при рождении. Таким образом, в ходе исследования установлен ряд особенностей гематологических показателей среди недоношенных детей в зависимости от их массы тела при рождении, что требует дальнейшего изучения данного вопроса.

Ключевые слова: недоношенные дети, экстремально низкая масса тела, эритроциты, гемоглобин, тромбоциты

Ходкевич П.Е. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 84–9.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-84-89

Hematological parameters in preterm infants in early childhood

P.E. Khodkevich^{1,2}, O.S. Fedorova², K.V. Kulikova³, I.A. Deev⁴

¹Children's Hospital No. 1, Tomsk

²Siberian State Medical University, Tomsk

³The Evtushenko Regional Perinatal Center, Tomsk

⁴The N.I. Pirogov National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

The objective of our study was to establish characteristic values of the main hematological parameters (platelet, red blood cell (RBC), and white blood cell (WBC) counts, and hemoglobin level) in preterm infants in early childhood, taking into account their birth weight. The study was approved by the independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Siberian State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Tomsk). The study included data from 302 children born between 2014 and 2020 in Tomsk. The inclusion criteria for the main study group were premature infants with a birth weight of less than 2500 grams. The main group ($n = 226$) was stratified by birth weight: low birth weight ($n = 78$), very low birth weight ($n = 76$), and extremely low birth weight ($n = 72$). The inclusion criteria for the control group ($n = 76$) were healthy full-term infants with a birth weight of more than 2500 grams. During follow-up care for the first three years of life, the following complete blood count parameters were measured in the early neonatal period (initial examination within the first 24 hours of birth), and at the age of one, two, and three years: hemoglobin level (g/L), RBC count ($\times 10^{12}/L$), WBC count ($\times 10^9/L$) and platelet count ($\times 10^9/L$). Our study showed a correlation of complete blood count parameters with birth weight in children from birth to three years. In the neonatal period, there was a direct correlation between birth weight and RBC count ($r = 0.428$; $p < 0.001$), hemoglobin levels ($r = 0.137$; $p = 0.029$), and platelet counts ($r = 0.453$; $p < 0.001$). In the first days of life, children with extremely low birth weight had statistically significantly lower RBC counts ($3.92 (3.51-4.27) \times 10^{12}/L$), platelet counts ($171.5 (133-229) \times 10^9/L$) and hemoglobin levels ($156 (142-172) g/L$) than children in other groups. We observed an inverse correlation between hemoglobin level and birth weight and a direct correlation between platelet count and birth weight in early childhood. The study revealed the dependence of some hematological parameters in premature infants on their birth weight, which requires further investigation.

Key words: premature infants, extremely low birth weight, red blood cells, hemoglobin, platelets

Khodkevich P.E., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 84–9.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-84-89

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPhO»

Received 20.02.2024

Accepted 03.10.2024

Correspondence:

Polina E. Khodkevich,
a neonatologist at the Special Care Nursery
of Children's Hospital No. 1; an assistant
lecturer at the Department of Pediatrics
with a Course of Childhood Diseases
of the Faculty of General Medicine
of the Siberian State Medical University of
Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 2 Moskovsky Trakt,
Tomsk 634050, Russia
E-mail: pkhodkevich@mail.ru

За последние десятилетия в Российской Федерации значительно улучшилось качество выхаживания недоношенных новорожденных, особенно с очень низкой (ОНМТ) и экстремально низкой (ЭНМТ) массой тела при рождении [1]. Дети данной когорты являются группой риска по развитию патологии нервной, дыхательной и сердечно-сосудистой систем, наличию инфекционных заболеваний, а также склонны к развитию анемического и геморрагического синдромов [2–5].

В ряде зарубежных и отечественных исследований был проведен анализ особенностей гематологических показателей недоношенных новорожденных в неонатальном периоде в зависимости от массы тела при рождении и гестационного возраста, были выявлены более низкие показатели по всем росткам кроветворения в сравнении с доношенными детьми [6–8].

В современной литературе не описано результатов научных исследований, отражающих динамику гематологических показателей у недоношенных новорожденных в раннем детском возрасте, чаще исследователи ограничивались хронологическим возрастом до 6 месяцев на небольшой когорте детей (30–150 человек). В связи с этим нами было выполнено исследование основных показателей периферической крови среди недоношенных детей в динамике катamnестического наблюдения в возрасте до 3 лет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В 2014 г. в ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Томск) стартовало проспективное когортное исследование новорожденных, в результате которого были получены данные о физическом и нервно-психическом развитии, состоянии здоровья недоношенных детей в возрасте до 5 лет [9]. В данной публикации представлены результаты оценки основных гематологических показателей по общему анализу крови (ОАК), полученному на автоматическом гематологическом анализаторе: уровень гемоглобина (г/л), количество эритроцитов ($\times 10^{12}/л$), лейкоцитов ($\times 10^9/л$) и тромбоцитов ($\times 10^9/л$) в зависимости от массы тела при рождении в раннем детском возрасте: в раннем неонатальном периоде (визит 0, V0), в возрасте 1 года (визит 1, V1), 2 лет (визит 2, V2) и 3 лет (визит 3, V3) (рисунки). В исследование были включены данные 302 детей, рожденных в 2014–2020 гг. в Томске. Критерии включения для основной группы исследования ($n = 226$): недоношенные новорожденные с массой тела при рождении менее 2500 г. В зависимости от массы тела при рождении дети основной группы были разделены на 3 подгруппы: с низкой массой тела (НМТ; $n = 78$),

ОНМТ ($n = 76$) и ЭНМТ ($n = 72$) (таблица 1). Критерии включения для группы контроля ($n = 76$): здоровые доношенные дети с массой тела при рождении более 2500 г. До включения новорожденных в группы наблюдения все законные представители детей подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом (протокол №7937 от 28.10.2019) и утверждено решением ученого совета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (Томск).

Статистический анализ данных проведен с помощью пакета программ Statistica for Windows 13.0 (Statsoft, США). Для описания количественных показателей данные представлены в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1–Q3). Для оценки значимости различий в 2 независимых группах был использован критерий Манна–Уитни. Для качественных данных определены абсолютное значение и процентное соотношение. При сравнении частот качественных признаков был использован критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса. Для выявления и оценки тесноты связи между 2 рядами сопоставляемых количественных показателей использовался коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Разница считалась статистически значимой при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе исследования проанализированы медицинские данные 302 детей. Основная группа составила 226 пациентов (123 мальчика и 103 девочки, 54% и 46% соответственно), группа контроля – 76 человек (57 мальчиков и 19 девочек, 75% и 25% соответственно). Группы между собой статистически значимо различались по полу ($p = 0,002$).

Средние значения массы тела при рождении и срока гестации имели статистически значимые различия в зависимости от группы наблюдения (таблица 2).

Оценка основных гематологических показателей

При анализе показателей эритроцитарного ростка по ОАК установлено, что у недоношенных детей количество эритроцитов при первичном обследовании (V0) было статистически значимо меньше, чем среди детей группы контроля ($p < 0,001$). При этом у детей с ЭНМТ при рождении как количество эритроцитов, так и уровень гемоглобина были статистически значимо ниже, чем среди недоношенных детей из других подгрупп ($p < 0,001$). В раннем детском возрасте отмечалась обратная картина по данным показателям: уровень гемоглобина у детей с ОНМТ и ЭНМТ при рождении был статистически значимо выше, чем среди детей группы контроля. При

этом средний уровень гемоглобина у детей с ЭНМТ при рождении в возрасте 1 года был статистически значимо выше, чем среди недоношенных детей из других подгрупп (таблица 3).

В ходе исследования выявлены умеренная прямая корреляционная связь между количеством эритроцитов и массой тела при рождении ($r = 0,428$; $p < 0,001$) и слабая корреляционная связь между

Рисунок
Схема исследования

Figure
Scheme of the study

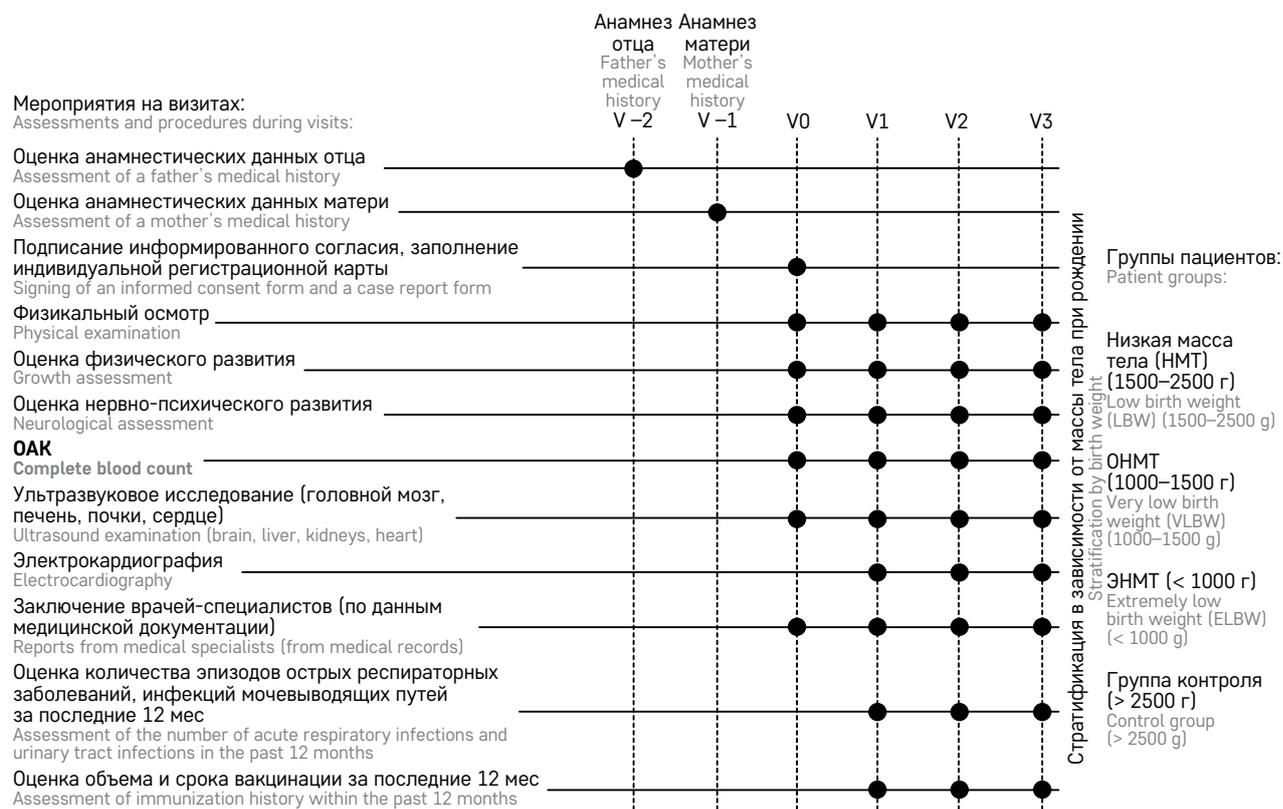


Таблица 1
Число детей, включенных в исследование, в зависимости от группы наблюдения

Table 1
The number of children enrolled in the study subgroups

Визит Visit	Группа контроля, n (%) Control group, n (%)	Основная группа, n (%) Main group, n (%)			Всего, n (%) Total, n (%)
		HMT LBW	ОНМТ VLBW	ЭНМТ ELBW	
V0	76 (25)	78 (26)	76 (25)	72 (24)	302 (100)
V1	63 (24)	70 (27)	66 (25)	63 (24)	262 (100)
V2	12 (9)	41 (31)	36 (27)	44 (33)	133 (100)
V3	12 (9)	38 (30)	35 (27)	44 (34)	129 (100)

Notes. V0 – visit in the neonatal period; V1 – visit at 1 year of age; V2 – visit at 2 years of age; V3 – visit at 3 years of age.

Таблица 2
Средние масса тела при рождении и срок гестации детей, включенных в исследование, в зависимости от группы наблюдения

Table 2
The median birth weight and gestational age of the children in the study subgroups

Показатель Parameter	Группа контроля (n = 76) Control group (n = 76)	Основная группа (n = 226) Main group (n = 226)			p*
		HMT (n = 78) LBW (n = 78)	ОНМТ (n = 76) VLBW (n = 76)	ЭНМТ (n = 72) ELBW (n = 72)	
Масса тела при рождении, Me (Q1–Q3), кг Birth weight, Me (Q1–Q3), kg	3,35 (3,2–3,52)	1,89 (1,69–2,18)	1,33 (1,2–1,43)	0,77 (0,65–0,95)	< 0,001
Срок гестации, Me (Q1–Q3), недели Gestational age, Me (Q1–Q3), weeks	39 (38–40)	33 (32–34)	30 (29–31)	26 (25–28)	< 0,001

Примечание. Здесь и в таблице 3: * – критерий Манна–Уитни.
Notes. Here and in table 3: * – the Mann–Whitney test.

уровнем гемоглобина и массой тела при рождении ($r = 0,137$; $p = 0,029$) при первичном гематологическом обследовании. Также в ходе исследования установлена слабая обратная корреляционная связь между уровнем гемоглобина и массой тела при рождении в возрасте 1 года ($r = -0,272$; $p < 0,001$), 2 лет ($r = -0,230$; $p = 0,033$) и 3 лет ($r = -0,352$; $p = 0,002$).

При анализе данных установлено, что количество тромбоцитов по ОАК во все возрастные периоды среди недоношенных детей было ниже, чем в группе контроля. Статистически значимые различия были получены при первичном гематологическом обследовании на V0 ($p < 0,001$, при сравнении всех подгрупп основной группы с группой контроля). При этом среди детей с ЭНМТ при рождении количество тромбоцитов было статистически значимо ниже, чем среди недоношенных новорожденных с НМТ ($p < 0,001$) и ОНМТ

($p < 0,001$) при рождении. Также в возрасте 1 года сохранялся статистически значимо низкий уровень количества тромбоцитов среди детей с ЭНМТ при рождении в сравнении с группой контроля ($p = 0,014$) (таблица 3). В ходе исследования выявлена прямая корреляционная связь между количеством тромбоцитов и массой тела при рождении: при первичном гематологическом обследовании – умеренная ($r = 0,453$; $p < 0,001$), в возрасте 1 года ($r = 0,175$; $p = 0,027$) и 3 лет ($r = 0,257$; $p = 0,032$) – слабая.

В ходе исследования нами не было выявлено статистически значимых различий по количеству лейкоцитов по ОАК между группами наблюдения в раннем детском возрасте.

Оценка распространенности анемии

В результате исследования установлено, что среди недоношенных детей анемию тяжелой степени

Таблица 3

Средние значения основных гематологических показателей у детей по ОАК в зависимости от возраста и группы наблюдения

Table 3

The median values of the main hematological parameters in the children measured by complete blood count testing according to age and study subgroup

Показатель Parameter	Группа контроля Control group, Me (Q1-Q3)	Основная группа Main group							
		НМТ LBW		ОНМТ VLBW		ЭНМТ ELBW			
		Me (Q1-Q3)	p^* (при сравнении с группой контроля) p^* (in com- parison with the control group)	Me (Q1-Q3)	p^* (при сравнении с группой контроля) p^* (in com- parison with the control group)	Me (Q1-Q3)	p^* (при сравнении с группой контроля) p^* (in com- parison with the control group)	p^* (при сравне- нии с под- группой НМТ) p^* (in com- parison with the LBW group)	p^* (при сравне- нии с под- группой ОНМТ) p^* (in com- parison with the VLBW group)
V0									
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$ Red blood cells, $\times 10^{12}/L$	5,1 (4,21–5,2)	4,6 (4,11–5,04)	0,010	4,38 (3,83–4,93)	< 0,001	3,92 (3,51–4,27)	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/L	169 (145–181)	172 (152–191)	0,356	165 (147–184)	0,946	156 (142–172)	0,036	0,002	0,022
Тромбоциты, $\times 10^9/л$ Platelets, $\times 10^9/L$	301 (267–342)	241 (191–306)	< 0,001	196 (159–275,5)	< 0,001	171,5 (133–229)	< 0,001	< 0,001	0,035
V1									
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$ Red blood cells, $\times 10^{12}/L$	4,51 (4,45–4,75)	4,5 (4,24–4,8)	0,832	4,6 (4,3–4,9)	0,556	4,65 (4,38–5,02)	0,269	0,180	0,382
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/L	117,5 (111–121)	120 (112–128)	0,142	123 (118–128)	0,009	129,5 (119,5–135)	< 0,001	0,002	0,006
Тромбоциты, $\times 10^9/л$ Platelets, $\times 10^9/L$	354,5 (283–391)	296 (262–351)	0,095	293 (250–336)	0,106	286 (247–310)	0,014	0,115	0,323
V2									
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$ Red blood cells, $\times 10^{12}/L$	4,61 (4,52–4,67)	4,78 (4,6–5)	0,110	4,85 (4,68–5,09)	0,020	4,76 (4,32–5,09)	0,965	0,459	0,180
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/L	121 (116,5– 127)	126 (119–130)	0,346	128 (124–134)	0,025	130 (121,5–137)	0,086	0,111	0,784
Тромбоциты, $\times 10^9/л$ Platelets, $\times 10^9/L$	253,5 (203,5–341)	268 (223–320)	0,629	248,5 (214,5–291)	0,761	269 (229–305)	0,558	0,834	0,260
V3									
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$ Red blood cells, $\times 10^{12}/L$	4,49 (4,37–4,75)	4,78 (4,5–5,08)	0,146	4,73 (4,56–5,02)	0,146	4,85 (4,56–5,3)	0,100	0,630	0,439
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/L	120 (115–124)	127 (121–137)	0,081	132 (124–133)	0,009	136 (123–140)	0,021	0,124	0,189
Тромбоциты, $\times 10^9/л$ Platelets, $\times 10^9/L$	316 (291–332)	279,5 (230–305)	0,103	265 (203–316)	0,174	253 (198–273)	0,073	0,132	0,412

в период новорожденности имели 62 (86,11%) ребенка с ЭНМТ при рождении, что статистически значимо чаще, чем среди детей с НМТ ($n = 9$, 11,54%; $p < 0,001$) и ОНМТ ($n = 25$, 32,89%; $p < 0,001$) при рождении. При этом дети с ОНМТ при рождении статистически значимо чаще нуждались в проведении гемотрансфузии эритроцитосодержащих препаратов, чем дети с НМТ при рождении ($p = 0,002$). Ни у одного ребенка из группы контроля в неонатальном периоде не была диагностирована анемия.

В возрасте до 1 года анемию разной степени тяжести (от легкой до тяжелой) имели 26 (37,14%) детей с НМТ, 29 (43,94%) – с ОНМТ и 21 (33,33%) – с ЭНМТ при рождении, что статистически значимо чаще, чем среди детей группы контроля – 4 (6,35%; $p < 0,001$). При этом ни один доношенный ребенок не имел анемию тяжелой степени в раннем детском возрасте. На V2 и V3 зафиксированы единичные случаи анемии легкой степени в разных группах наблюдения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате проведенного исследования нами было установлено, что в раннем неонатальном периоде среди недоношенных новорожденных чаще была зафиксирована анемия, чем среди доношенных детей, также отмечались более низкие показатели уровня гемоглобина, количества эритроцитов и тромбоцитов, особенно среди детей с ЭНМТ при рождении, что сопоставимо с данными отечественных и зарубежных исследований [5–7, 10]. Также в неонатальном периоде установлена умеренная прямая корреляционная связь между массой тела при рождении и такими показателями ОАК, как количество тромбоцитов и эритроцитов.

При дальнейшем наблюдении в возрасте до 3 лет были выявлены более высокие показатели уровня гемоглобина и количества эритроцитов среди недоношенных детей, особенно с ОНМТ и ЭНМТ при рождении. Схожие результаты были получены в ходе ретроспективного исследования Л.В. Ледяйкиной и соавт. (2017; $n = 90$), авторы установили, что в фактическом возрасте 6 месяцев среди недоношенных новорожденных происходило повышение показателей «красной крови» [10]. В ходе нашего исследования выявлено, что такая тенденция сохраняется на протяжении всего периода раннего детства, что подтверждается не только статистически значимыми различиями уровня гемоглобина между группами наблюдения, но и наличием, хоть и слабой, обратной корреляционной связи между данным показателем и массой тела при рождении. Данная особенность ранее не была описана в литературе, одной из возможных причин этого явления

может быть принятая активная тактика профилактики поздней анемии недоношенных и железодефицита на первом году жизни. Учитывая отсутствие информации по данному вопросу, необходимо проведение дальнейших углубленных исследований в этой области.

При исследовании количества тромбоцитов по ОАК определена прямая корреляционная связь с массой тела при рождении на протяжении всего периода наблюдения, при этом показатели не выходили за пределы референтных значений. В исследовании Н. Го и соавт. (Япония, 2020; $n = 148$) описаны перинатальные факторы, влияющие на морфофункциональные особенности тромбоцитов в неонатальном периоде (мужской пол, артериальная гипертензия, задержка развития плода) для доношенных и поздних недоношенных новорожденных, однако для детей с массой тела при рождении менее 1500 г таких исследований проведено не было [11].

Ограничения исследования

Ограничением для данного исследования является малая выборка детей, которая подлежала катamnестическому наблюдению, так как в когорту включены недоношенные дети одного субъекта Российской Федерации, также ограничение связано в том числе с ежегодным уменьшением количества экстремально преждевременных родов в регионе. Немаловажным ограничением исследования было то, что не проводился анализ питания (естественное, смешанное, искусственное, рацион питания на 2–3-м году жизни) и профилактики анемии и дефицита железа (эритропоэтин, препараты железа и длительность их использования) у детей основной и контрольной групп, что могло повлиять на полученные результаты.

Другой сложностью проведения когортного исследования являлось сохранение изначального числа участников на протяжении всего периода катamnестического наблюдения (выборка уменьшалась с каждым годом за счет случайных потерь – смена места жительства исследуемого, смена номеров телефонов законных представителей, отказ от дальнейшего наблюдения).

Перспективы исследования

В дальнейшем планируется расширение территории исследования с включением в когорту недоношенных детей из других регионов России.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования был выявлен ряд особенностей гематологических показателей среди недоношенных новорожденных в зависимости от их массы тела при рождении как при первичном обследовании, так и на протяжении всего раннего детского возраста.

Выявлены низкие показатели количества тромбоцитов и эритроцитов, уровня гемоглобина в раннем неонатальном периоде среди недоношенных детей, особенно с ЭНМТ при рождении, что обусловлено тяжестью состояния пациентов, течением инфекционного процесса, действием неблагоприятных перинатальных факторов, это необходимо учитывать при каждом заборе крови (каждый лабораторный анализ должен быть строго обоснован).

По результатам нашего исследования выявлены более высокие показатели уровня гемоглобина и более низкие показатели количества тромбоцитов среди недоношенных детей, особенно с ЭНМТ при рождении, на протяжении раннего детского возраста, что, возможно, является физиологической нормой для данной когорты детей либо результатом проведения профилактики анемии недоношенных в грудном

возрасте. Однако, учитывая отсутствие данных в отечественной и зарубежной литературе о возможных причинах этих особенностей, необходимо проведение дальнейших исследований в данной области, в том числе в целях определения референтных значений всех гематологических показателей в зависимости от массы тела при рождении.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Khodkevich P.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7639-1747>

Fedorova O.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7130-9609>

Kulikova K.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8926-5918>

Deev I.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4449-4810>

Литература / References

1. Баранов А.А., Альбицкий В.Ю., Намазова-Баранова Л.С. Смертность детского населения в России: состояние, проблемы и задачи профилактики. Вопросы современной педиатрии 2020; 19 (2): 96–106. DOI: 10.15690/vsp.v19i2.2102 [Baranov A.A., Albitskiy V.Yu., Namazova-Baranova L.S. Child Mortality in Russia: Situation, Challenges and Prevention Aims. Current Pediatrics 2020; 19 (2): 96–106. (In Russ.)].
2. Kumar V.H.S. Cardiovascular Morbidities in Adults Born Preterm: Getting to the Heart of the Matter! Children (Basel) 2022; 9 (12): 1843. DOI: 10.3390/children9121843
3. Сафина А.И., Волянюк Е.В. Отдаленные психоневрологические исходы глубоко недоношенных детей, перспективы диагностики и коррекции. Российский вестник перинатологии и педиатрии 2020; 65 (5): 227–31. DOI: 10.21508/1027-4065-2020-65-5-227-231 [Safina A.I., Volyanyuk E.V. Long-term neuropsychiatric outcomes of deeply premature infants, prospects for diagnosis and correction. Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics 2020; 65 (5): 227–31. (In Russ.)].
4. Волянюк Е.В. Результаты мониторинга заболеваемости и исходов развития к 3 годам жизни у недоношенных детей, родившихся с экстремально низкой массой тела. Практическая медицина 2019; 17 (5): 175–9. DOI: 10.32000/2072-1757-2019-5-175-179 [Volyanyuk E.V. Results of monitoring of morbidity and developmental outcomes by 3 years of age in premature infants born with extremely low body weight. Practical Medicine 2019; 17 (5): 175–9. (In Russ.)].
5. Осиков М.В., Альмухаметова О.Н., Евтушенко В.П. Гематологические показатели и концентрация эритропоэтина в сыворотке у недоношенных новорожденных от очень ранних и ранних преждевременных родов. Современные проблемы науки и образования 2018; 6. [Osikov M.V., Almuhametova O.N., Evtushenko V.P. Hematological indicators and concentration of erythropoietin in serum in unemployed newborns from very early and early premature genus. Current Issues of Science and Education 2018; 6. (In Russ.)].
6. Roudil P., Vasselon C., Trombert-Pavio B., Berger C. Blood parameters of preterm neonates: postnatal evolution according to gestational age. Patural Hnt J Lab Hematol 2017; 39 (3): 317–28. DOI: 10.1111/ijlh.12629
7. Будалова А.В., Харламова Н.В., Кузьменко Г.Н. Морфофункциональные особенности тромбоцитов у недоношенных новорожденных с очень низкой и экстремально низкой массой. Педиатр 2021; 12 (2): 35–41. DOI: 10.17816/PED12235-41 [Budalova A.V., Kharlamova N.V., Kuzmenko G.N. Morphofunctional features of platelets in premature newborns with very low and extremely low body weight. Pediatrician 2021; 12 (2): 35–41. (In Russ.)].
8. Арзикулов А.Ш. Состояние гематологических показателей и микроэлементный состав крови у недоношенных детей с перинатальной постгипоксической энцефалопатией в раннем неонатальном периоде. Экономика и социум 2023; 112 (9): 420–4. [Arzikulov A.Sh. State of hematological indicators and microelement composition of blood in premature babies with perinatal posthypoxic encephalopathy in the early neonatal period. Economy and Society 2023; 112 (9): 420–4. (In Russ.)].
9. Деев И.А., Куликова К.В., Кобякова О.С., Куликов Е.С., Холопов А.В., Степанов И.А. и др. Клиническая характеристика новорожденных с различной массой тела при рождении (результаты многоцентрового когортного исследования). Педиатр 2016; 7 (4): 67–76. DOI: 10.17816/PED7567-76 [Deev I.A., Kulikova K.V., Kobyakova O.S., Kulikov E.S., Holopov A.V., Stepanov I.A., et al. Clinical characteristics of newborn with different birth weight (results of a multicenter cohort study). Pediatrician 2016; 7 (4): 67–76. (In Russ.)].
10. Ледяйкина Л.В., Балыкова Л.А., Герасименко А.В., Верещачина В.С., Радынова С.Б., Аданичкина О.И., Акимова Е.Б. Динамика показателей гемограммы у детей, рожденных с экстремально низкой массой тела. Российский вестник перинатологии и педиатрии 2017; 62 (6): 51–6. DOI: 10.21508/1027-4065-2017-62-6-51-56 [Ledyaykina L.V., Balykova L.A., Gerasimenko A.V., Vereshchagina V.S., Radynova S.B., Adanichkina O.I., Akimova E.B. Dynamics of hemogram indexes among children born with extremely low body weight. Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics 2017; 62 (6): 51–56 (In Russ.)].
11. Go H., Ohto H., Nollet K.E., Kashiwabara N., Chishiki M., Hoshino M., et al. Perinatal factors affecting platelet parameters in late preterm and term neonates. PLoS One 2020; 15 (11): e0242539. DOI: 10.1371/journal.pone.0242539

© by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 11.09.2024

Accepted 15.10.2024



EDN: LWJAPB

Correspondence:

Asmaa A. Mahmoud,
Department of Pediatrics, Faculty
of Medicine, Menoufia University
Address: 5321, Egypt
E-mail: asmaasoliman50@gmail.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-90-94

Anti-thyroid antibodies in children with immune thrombocytopenia

Seham M. Ragab¹, Asmaa A. Mahmoud¹, Amira M.F. Shehata², Eman Hamdy Alsegaey³¹Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Menoufia University, Shebin El Kom, Egypt²Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine, Menoufia University, Shebin El Kom, Egypt³Ministry of Health and Population, Egypt

To assess the prevalence of anti-thyroid antibodies (AB) in pediatric patients with immune thrombocytopenia (ITP). This cross-sectional study included 50 ITP cases recruited at the Hematology Unit of the Pediatric Department at Menoufia University Hospital, along with 50 healthy controls matched by age and sex. Laboratory tests included complete blood count, measurement of anti-thyroid AB (anti-thyroid peroxidase (TPO) and anti-thyroglobulin (TG)), lactate dehydrogenase (LDH) and serum fibrinogen. The study was approved by the Institutional Review Board (IRB) of the Menoufia Faculty of Medicine (approval ID number: 4/2020PEDI12). Research was performed in accordance with the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from the patients' parents and caregivers after explaining all aspects of the study, with the right to withdraw at any time. TPO and TG antibody levels were significantly higher in the cases than in the controls (p -value = 0.001). The chronic ITP cases showed significantly higher TPO and TG AB levels than the newly diagnosed ITP patients (p -value = 0.001). There was no significant difference between males and females in terms of anti-TPO levels (p -value > 0.05). A significant negative correlation was found between anti-TPO levels and LDH levels ($r = -0.0326$, p -value = 0.021) and a significant positive correlation – between anti-TPO levels and TG antibody levels ($r = 0.360$, p -value = 0.01). TG and anti-TPO AB levels were elevated in the children with ITP, particularly in cases of chronic ITP, with the cut-off point for chronicity being > 12.8 for anti-TPO and > 11.8 for TG antibodies.

Key words: anti-thyroid peroxidase, thyroglobulin antibody, autoimmune thyroiditis, children, immune thrombocytopenia

Seham M. Ragab, et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 90–4.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-90-94

Primary immune thrombocytopenia (ITP) is an autoimmune disorder characterized by elevated risk of bleeding and a low platelet count ($< 100 \times 10^9/L$). The cause of ITP is typically unknown; however, it may be triggered by a viral infection, vaccination, environmental or other immunologic factors [1]. Previously known as idiopathic thrombocytopenic purpura, the current term “immune thrombocytopenia”, while still abbreviated as “ITP”, now acknowledges the immune-mediated mechanism of the disorder and the possibility that patients may exhibit minimal or no signs of bleeding or purpura [2]. ITP is divided into three phases according to the timing and duration of symptoms. The term “newly diagnosed ITP” is defined as the disease within 3 months of diagnosis. Persistent ITP is diagnosed when thrombocytopenia persists for 3 to 12 months, while chronic ITP lasts beyond 12 months, with but a small chance of definitive resolution [3]. The standard terminology and definitions for ITP were created by the International Working Group of expert clinicians [4].

Corticosteroids are generally recommended as first-line treatment for ITP but response rates may drop during tapering or following drug discontinuation. Patients who do not achieve sustained response to corticosteroids require additional therapy. Anti-D (anti-Rh) globulin and intravenous immune globulin are also used for first-line management of the disease. The second line of treatment for chronic ITP includes

splenectomy, thrombopoietin receptor agonists (e.g., eltrombopag and romiplostim) and rituximab [5].

Secondary ITP is linked to an underlying illness whereas primary ITP is considered idiopathic. Despite limited research, the incidence of secondary ITP in children is expected to be low. Secondary ITP may be caused by systemic autoimmune diseases, secondary or primary immunodeficiencies, paraneoplastic syndromes (including malignancies and lymphomas), viral diseases, and drug-dependent antibodies (AB) [6].

As previously mentioned, autoimmunity may be induced by infectious diseases and vaccination. This holds true for primary ITP in children, as it can also be triggered by infections such as HIV, Helicobacter pylori, varicella-zoster and hepatitis C viruses, as well as by a combined measles, mumps, rubella vaccine [7].

In the study by P. Giordano et al., significantly higher prevalence of anti-thyroid AB, including anti-thyroid peroxidase (TPO) and anti-thyroglobulin (TG), was registered in the pediatric patients with chronic ITP than in the healthy controls. Despite this finding, there is a lack of conclusive data regarding the prognostic role of autoimmune thyroiditis in chronic ITP patients. There have been reports of ITP concurrent with positive anti-platelet AB, combined with decreased serum thyroid-stimulating hormone (TSH) concentrations and the presence of anti-TSH receptor AB [8].

MATERIALS AND METHODS

This cross-sectional study included 50 cases with ITP (23 females and 27 males, aged 2.5 to 13 years old) who had been recruited at the Hematology Unit of the Pediatric Department at Menoufia University Hospital, along with 50 healthy controls matched by age and gender. The study was approved by the Institutional Review Board (IRB) of the Menoufia Faculty of Medicine (approval ID number: 4/2020PEDI12). Research was performed in accordance with the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from the patients' parents and caregivers after explaining all aspects of the study, with the right to withdraw at any time.

Inclusion criteria: pediatric patients with ITP with a platelet count of $< 100 \times 10^9/L$ and an increased risk of bleeding as defined by the American Society of Hematology. ITP was classified as newly diagnosed, persistent and chronic.

Exclusion criteria: ITP due to other factors such as sepsis, infection, drugs, ITP secondary to other conditions (systemic lupus erythematosus, Evans syndrome), post-vaccination ITP, ITP following treatment of autoimmune lymphoproliferative syndrome, active life-threatening bleeding at the time of recruitment.

All the participants underwent a clinical examination, detailed history-taking and laboratory tests including measurements of anti-thyroid AB (TPO and TG), serum fibrinogen and lactate dehydrogenase (LDH), as well as complete blood count (CBC).

Samples were collected using aseptic venipuncture technique and divided into four parts. One part was placed in a tube with dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid (K2-EDTA) for a CBC. A second portion of the sample was added into a tube with sodium citrate and used to measure plasma fibrinogen levels. A third portion was put in a plain vacutainer tube, allowed to clot, and then centrifuged to obtain serum for LDH measurement. The remaining portion was also placed in a plain vacutainer tube, allowed to clot, and then centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes. The separated sera were stored at -20°C until testing (an evaluation of TPO and TG AB).

In our study, we used the following systems and equipment: 1. The automated Sysmex XN-1000 hematology analyzer (Sysmex Corporation, Kobe, Japan) for CBC. 2. The STA compact coagulation analyzer (Diagnostica Stago, Asnières, France) for plasma fibrinogen measurement using the Clauss method. 3. The AU680 chemistry analyzer (Beckman Coulter Inc, Brea, California, USA) for serum LDH measurement. 4. Electrochemiluminescence immunoassay (Roche Diag-

nostics, Mannheim, Germany) for the determination of TPO-TG AB.

Statistical analysis

The data were statistically analyzed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 22 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois, USA) on an IBM personal computer. Quantitative data were analyzed using mean, standard deviation (SD), range, and percentages, while for qualitative data we employed numbers and percentages. The chi-square test was used to investigate the correlation between two qualitative variables. The non-normally distributed quantitative variables were compared using the t-test. The Mann-Whitney test was used to compare the two groups with non-normal distribution and quantitative variables. Spearman's correlation (r) was used to determine the correlation between two quantitative variables. We also plotted ROC curves which are a graphical representation of the relationship between specificity and sensitivity of a diagnostic test at various cut-off points. A p -value of < 0.05 was set as the significance level.

RESULTS

Hemoglobin levels, serum fibrinogen, reticulocyte count, platelet count, and plateletcrit were considerably lower in the cases than in the controls. MPV and PDW were significantly higher in the cases than in the controls, as shown in *table 1*. In the studied groups, anti-thyroid AB, namely, AB to TG and anti-TPO AB, were significantly higher in the cases than in the controls, as displayed in *table 2*. There was a significant negative correlation between anti-TPO and LDH levels and a significant positive correlation between anti-TPO and TG AB levels in the studied cases, as demonstrated in *figure 1*. At a cutoff point of > 12.8 IU/ml, anti-TPO AB test had a sensitivity of 91% and a specificity of 78% in detecting children with chronic ITP. Additionally, at a cutoff point of > 11.8 ng/ml, TG antibody test had a sensitivity of 82% and a specificity of 68%, as displayed in *table 3* and *figures 2A, B*.

DISCUSSION

Autoimmune hemolytic anemia, antiphospholipid syndrome, systemic lupus erythematosus, Hashimoto's thyroiditis, and Graves' disease can all be associated with ITP [9]. Anti-thyroid AB (anti-TPO and anti-TG) have been reported to be positive in 18% to 36% of patients with ITP. The relationship between subsequent development of autoimmune thyroiditis such as Hashimoto's thyroiditis and the positivity for anti-thyroid AB,

as well as the potential impact on the outcome of ITP remain unclear [10, 11].

We conducted this study to assess the prevalence of anti-thyroid AB in pediatric ITP patients and their correlation with disease progression. The studied patients were matched by age and gender, with a slight male predominance (54%) that was consistent with the study by Mohammed et al. (2022) [12] who had discov-

ered that the majority of the cases under investigation were male. Badrawy et al. (2013) [13] also discovered male predominance in newly diagnosed ITP patients, while Makis et al. (2017) [14] found that ITP affected both genders equally. In contrast to our study, Eyada et al. (2012) [15] discovered female predominance among the children diagnosed with ITP. At the same time, Donato et al. (2009) [16] observed that patients under two years old were mostly male.

The median age in our study was five years, consistent with the findings of Ahmed et al. (2004) [17], and Makis et al. (2017) [14].

In our study, 30% of the patients experienced mucosal bleeding, which coincided with the findings of Al-Zuhairy (2013) [18] who had reported that petechiae and/or bruising were the most common clinical signs among the ITP patients (92%), followed by epistaxis (44%) and oral hemorrhage (32%).

As for bleeding grades, 21 (42%) patients experienced grade II bleeding and 29 (58%) patients – grade III bleeding. This is consistent with the results of Mohammed et al. (2022) [12], who had found that all the cases had cutaneous bleeding, with 47.4% exhibiting epistaxis and 57.9% – gingival bleeding. Grade I bleeding was experienced only by three (6%) patients, grade II – by 25 (52%) cases, and grade III – by 20 (43%) cases. Makis et al. (2017) [14] reported that 70% of the sample population of 43 children experienced mucosal bleeding, 2 patients had conjunctival bleeding, and 1 struggled with menorrhagia; however, no hepatosplenomegaly was observed.

In terms of ITP classification, 28 patients had newly diagnosed disease, while 22 patients (44%) had chronic ITP. Consistent with Mohammed et al. (2022) [12], about 40% of the cases had acute disease, 37.5% had chronic and 22.9% had persistent ITP. Similarly, Bay et al. (2013) [19] discovered that 51.7% of the

Table 1

A comparison of demographic data and laboratory findings in the studied groups

Variable	The cases (n = 50)	The controls (n = 50)	Test of sig.	p-value
Age, years: mean ± SD median (range)	5.76 ± 2.71 5 (2.50–13.0)	6.31 ± 2.76 6 (3.00–13.0)	U 1.17	0.242
Sex, n (%): male female	27 (54.0) 23 (46.0)	26 (52.0) 24 (48.0)	χ ² 0.040	0.841
Hb, gm/dl: mean ± SD median (range)	10.8 ± 0.64 10.7 (10.0–13.0)	12.6 ± 0.85 12.7 (11.0–13.8)	U 7.73	0.001*
TLC, × 10 ³ : mean ± SD median (range)	7.18 ± 0.81 7.05 (5.90–9.10)	6.94 ± 1.77 6.75 (4.00–10.8)	U 1.57	0.116
Reticulocyte, %: mean ± SD median (range)	1.31 ± 0.37 1.3 (0.70–2.10)	1.65 ± 0.36 1.6 (1.00–2.50)	U 3.98	0.001*
MPV, fl: mean ± SD median (range)	13.4 ± 0.83 13.5 (11.8–16.1)	9.27 ± 0.88 9.30 (7.50–10.9)	t-test 24.3	0.001*
PDW, %: mean ± SD median (range)	18.2 ± 2.09 18 (14.2–25.1)	12.3 ± 1.30 12 (10.5–14.7)	U 8.57	0.001*
Platelet count, × 10 ³ : mean ± SD median (range)	31.0 ± 7.11 30 (20.0–60.0)	258.5 ± 73.5 255 (160–452)	U 8.62	0.001*
Plateletcrit, %: mean ± SD median (range)	0.03 ± 0.03 0.02 (0.02–0.25)	0.23 ± 0.04 0.23 (0.17–0.31)	U 8.38	0.001*
LDH, mg/L: mean ± SD median (range)	274.5 ± 103.0 273 (110.0–537.0)	160.8 ± 49.2 122 (115.0–234.0)	U 5.57	0.012
Fibrinogen, mg/dl: mean ± SD median (range)	73.7 ± 57.0 50 (15.0–215.0)	273.6 ± 56.9 270 (200.0–380.0)	U 8.49	0.001*
Anti-TPO, IU/ml: mean ± SD median (range)	17.0 ± 12.9 13.5 (1.80–41.1)	5.40 ± 2.23 5.5 (1.80–8.90)	U 4.95	0.001*
TG AB, ng/ml: mean ± SD median (range)	15.1 ± 11.8 11.8 (1.50–46.0)	7.56 ± 3.09 7.2 (3.90–13.2)	U 3.87	0.001*

Notes. U – Mann-Whitney test; χ² – a chi-square test; HB – hemoglobin; TLC – total leukocyte count; MPV – mean platelet volume; PDW – platelet distribution width; * – significant.

Table 3

Sensitivity and specificity of TPO and TG antibody tests in detecting children with chronic ITP

Studied variable	AUC	p-value	Cut-off point	Sensitivity, %	Specificity, %	PPV, %	NPV, %	Accuracy, %
Anti-TPO	0.930	0.001	> 12.8	91	78	77	91.6	84
TG AB	0.830	0.001	> 11.8	82	68	67	83	74

Notes. AUC – area under the curve; PPV – positive predictive value NPV – negative predictive value.

Table 2

A comparison of anti-TPO and TG AB between the newly diagnosed and chronic ITP cases

Studied variables	Cases (n = 50)		Test of sig.	p-value
	Newly diagnosed (n = 28)	Chronic (n = 22)		
Anti-TPO, IU/ml: mean ± SD median (range)	8.25 ± 5.36 7.10 (1.80–19.0)	28.2 ± 10.8 33.5 (9.10–41.1)	U 5.18	0.001*
TG AB, ng/ml: mean ± SD median (range)	9.07 ± 4.19 8.75 (1.50–21.5)	22.9 ± 13.9 19.3 (5.50–46.0)	U 3.97	0.001*

Notes. U – Mann-Whitney test; * – significant.

151 ITP patients were newly diagnosed with acute ITP, while 48.3% were chronic.

Eltrombopag was administered in 22 (46%) patients, high-dose dexamethasone – in 15 (30%) patients, and oral prednisolone – in 13 (24%) patients.

We discovered that platelet count and hemoglobin levels were significantly lower in the cases compared to the controls. In view of the subclinical bleeding observed in the ITP patients, particularly those with chronic disease, MPV and PDW levels were significantly higher in the cases than in the controls. This is in line with the results of Tantawy et al. (2010) [20] who discovered that the total white blood cell and platelet counts and mean hemoglobin levels were significantly lower in all the ITP groups than in the healthy controls. These data are inconsistent with the findings of Mohammed et al. (2022) [12] who reported that mean platelet count at diagnosis was $12.42 \times 10^9/L$ and that there was no statistically significant difference in hemoglobin levels between the cases and controls.. Similarly, Al-Zuhairy (2013) [18] reported the mean platelet count of $13.2 \times 10^9/L$. Conversely, Makis et al. (2017) [14] demonstrated that the mean platelet count in recently diagnosed ITP patients was $5.5 \times 10^9/L$.

This finding was consistent with the fact that plateletcrit was substantially lower in the cases than in the controls. Arshad et al. (2021) [21] observed

that the cases had a lower platelet count than the controls.

LDH levels were not significantly higher in the cases compared to the controls but fibrinogen levels were significantly lower in the cases. This is in line with the findings of Velik-Salchner et al. (2007) [23] who demonstrated that the functional consequences of thrombocytopenia can be mitigated by administering fibrinogen concentrate. Since fibrinogen is essential for coagulation activity and the binding of FXIII required for clot stabilization, the cases with higher fibrinogen levels were less prone to hemorrhagic complications. Furthermore, fibrinogen plays a vital role in platelet activation and aggregation by binding to the platelet glycoprotein GPIIb/IIIa receptor. In contrast, Álvarez-Román et al. (2016) [24] found fibrinogen levels to be normal in both the healthy adults and the cases with ITP.

Both TPO and TG AB levels were significantly higher in the cases than in the controls, with the chronic cases also having much higher AB levels than the newly diagnosed ones. This finding is in line with the results of Bay et al. (2013) [19] who discovered a higher prevalence of these autoantibodies in the ITP cases. However, the prevalence of anti-thyroid AB did not differ significantly between the chronic and the recently diagnosed ITP cases.

A number of mechanisms that link thyroid diseases and thrombocytopenia have been identified. Hyperthyroidism is associated with genetic predisposition, increased expression of T-lymphocyte-associated antigen 4 (a T-cell surface molecule involved in the control of T cell proliferation), immune dysregulation, and elevated reticuloendothelial phagocytic activity. Additionally, the platelet lifespan is reduced [25].

Contrary to our results, Giordano et al. (2019) [8] found positive anti-thyroid AB in 11.6% of the study patients with chronic ITP and did not observe any correlation between the prevalence of positive anti-thyroid AB and platelet count. Mohammed et al. (2022) [12] reported that none of the patients had abnormal thyroid

Figure 1

A correlation between anti-TPO and LDH levels and between anti-TPO and TG AB levels in the studied cases

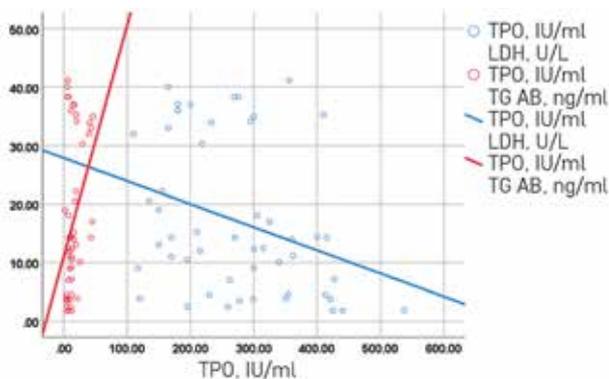
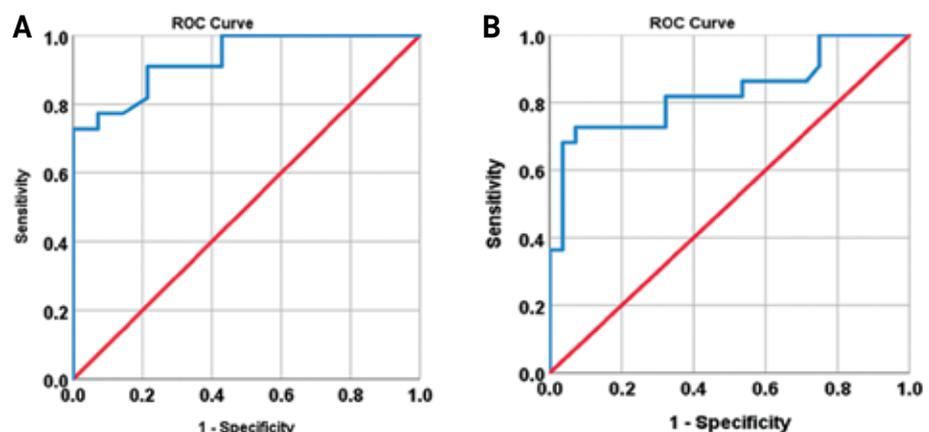


Figure 2

A – an ROC curve: sensitivity and specificity of anti-TPO testing in detecting children with chronic ITP; B – an ROC curve: sensitivity and specificity of TG AB testing in detecting children with chronic ITP



function or abnormal anti-thyroid AB levels during their study.

We demonstrated a significant negative correlation between TPO and LDH levels. A significant positive correlation was observed between TPO and TG antibody levels. In the cases, no significant correlations were found either between TPO levels and other laboratory findings or between TG antibody levels and other laboratory results.

We found that anti-TPO test had a sensitivity of 91% and a specificity of 78% in detecting children with chronic ITP at a cut-off point of > 12.8.

Our study was the first one to investigate the possibility of using thyroid AB to predict ITP in children. We discovered that TG antibody test had 82% sensitivity and 68% specificity at a cut-off of > 11.8.

CONCLUSION

Elevated TPO and TG antibody levels were observed in children with ITP, especially in those with chronic ITP. A cut-off point of > 12.8 for anti-TPO and > 11.8 for TG AB were used to determine chronicity.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank all the participants in the study and the team who helped with data collection.

FUNDING

No funding.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have no conflicts of interest to declare.

References

- Kim B.J., Kim H.S., Jang H.J., Kim J.H. *Helicobacter pylori* eradication in idiopathic thrombocytopenic purpura: a meta-analysis of randomized trials. *Gastroenterol Res Pract* 2018; 2018: 6090878.
- D'Orazio J.A., Neely J., Farhoudi N. ITP in Children. *J Pediatr Hematol Oncol* 2013; 35: 1–13.
- Consolini R., Renee Forbes L., Wahlstrom J., Pignata C., Giardino G., Gallo V. Unbalanced immune system: immunodeficiencies and autoimmunity. *Front Paediatr* 2016; 4: 1–9.
- Rodeghiero F., Stasi R., Gernsheimer T., Michel M., Provan D., Arnold D.M., et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. *Blood* 2009; 113 (11): 2386–93.
- Ghanima W., Godeau B., Cines D.B., Bussel J.B. How I treat immune thrombocytopenia: the choice between splenectomy or a medical therapy as a second-line treatment. *Blood* 2012; 120 (5): 960–9.
- Schiffertli A., Heiri A., Imbach P., Holzhauer S., Seidel M.G., Nugent D., et al. Misdiagnosed thrombocytopenia in children and adolescents: analysis of the Pediatric and Adult Registry on Chronic ITP. *Blood Adv* 2021; 5 (6): 1617–26.
- Zufferey A., Kapur R., Semple J.W. Pathogenesis and therapeutic mechanisms in immune thrombocytopenia (ITP). *J Clin Med* 2017; 6 (2): 16.
- Giordano P., Urbano F., Lassandro G., Bianchi F.P., Tolva A., Saracco P., et al. Role of antithyroid autoimmunity as a predictive biomarker of chronic immune thrombocytopenia. *Pediatr Blood Cancer* 2019; 66 (1): e27452.
- Bussel J., Cooper N., Boccia R., Zaja F., Newland A. Immune thrombocytopenia. *Exp Rev Hematol* 2021; 14 (11): 1013–25.
- Díaz-Polo L.E., Pujol-Moix N., Jiménez B., Canals C., Barranco-Charis E., Muñiz-Díaz E. Shared autoimmunity: A case series of 56 patients with immune thrombocytopenia (ITP) associated with other autoimmune disorders. *Open Access Library J* 2016; 3 (Aug 3): e2807.38
- Arnason J.E., Campigotto F., Neuberger D., Bussel J.B. Abnormalities in IgA and IgM are associated with treatment-resistant ITP. *Blood* 2012; 119: 5016–20.
- Mohammed M.A., Abdelhamid S.S., Zidan N.I., Abd El Karim N.A. Predictive and Prognostic Value of Mean Platelets Volume in Immune Thrombocytopenia in Children: Review Article. *Egypt J Hosp Med* 2022; 89 (1): 4247–50.
- Badrawy H., Elsayh K.I., Zahran A.M., El-Ghazali M.H. Platelet antibodies, activated platelets and serum leptin in childhood immune thrombocytopenic purpura. *Acta Haematol* 2013; 130 (4): 312–8.
- Makis A., Gkoutias A., Palianopoulos T., Pappa E., Papapetrou E., Tsaousi C. Prognostic Factors for Immune Thrombocytopenia Outcome in Greek Children: A Retrospective Single-Centered Analysis. *Adv Hematol* 2017; 17: 1–7.
- Eyada T.K., Farawela H.M., Khorshied M.M., Shaheen I.A. Selim N.M., Khalifa I.A.S. FcγRIIIa and FcγRIIIa genetic polymorphisms in a group of pediatric immune thrombocytopenic purpura in Egypt. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2012; 23 (1): 64–8.
- Donato H., Picón A., Martínez M., Rapetti M., Rosso A., Gomez S. Demographic data, natural history, and prognostic factors of idiopathic thrombocytopenic purpura in children: A multicentered study from Argentina. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 52 (4): 491–6.
- Ahmed S., Siddiqui A., Shahid R., Kimpo M., Sison C., Hoffman M., et al. Prognostic variables in newly diagnosed childhood immune thrombocytopenia. *Am J Hematol* 2004; 77: (4): 358–62.
- Al-Zuhairy S. Evaluation of Prognostic Factors in Newly Diagnosed Childhood Primary Immune Thrombocytopenia (ITP): Two-Year Prospective Study at Al-Sadder Hospital, Missan Province. *Med J Babylon*, 2013; 10: 855–69.
- Bay A., Coskun E., Leblebisatan G., Karaoglu O., Keskin M., Yavuz S., et al. Prevalence and clinical significance of antithyroid antibodies in children with immune thrombocytopenic purpura. *Pediatr Hematol Oncol* 2013; 30 (8): 698–704.
- Tantawy A.A.G., Matter R.M., Hamed A.A., Telbany M.A.S.E.D.E. Platelet microparticles in immune thrombocytopenic purpura in pediatrics. *Pediatr Hematol Oncol* 2010; 27: 283–96.
- Arshad A., Mukry S.N., Shamsi T.S. Clinical relevance of extended platelet indices in the diagnosis of immune thrombocytopenia. *Acta Clin Croat* 2021; 60 (4): 665–74.
- Tang Y.T., He P., Li Y.Z., Chen H.Z., Chang X.L., Xie Q.D., et al. Diagnostic value of platelet indices and bone marrow megakaryocytic parameters in immune thrombocytopenic purpura. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2017; 28 (1): 83–90.
- Velik-Salchner C., Haas T., Innerhofer P., Streif W., Nussbaumer W., Klingler A., et al. The effect of fibrinogen concentrate on thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* 2007; 5 (5): 1019–25.
- Álvarez-Román M.T., Fernández-Bello I., Jiménez-Yuste V., Martín-Salces M., Arias-Salgado E.G., Rivas Pollmar M.I., et al. Procoagulant profile in patients with immune thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2016; 175: 925–34.
- Dogan M., Sal E., Akbayram S., Peker E., Cesur Y., Oner A.F. Concurrent celiac disease, idiopathic thrombocytopenic purpura and autoimmune thyroiditis: a case report. *Clin Appl Thromb Hemost* 2011; 17 (6): E13–6.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-95-106

Иммуноадаптивный эффект индуцированной инфузией донорских лимфоцитов острой реакции «трансплантат против хозяина» у детей с острыми лейкозами

Н.В. Левковский, Л.А. Цветкова, О.В. Паина, А.В. Евдокимов, И.М. Бархатов, О.С. Епифановская, Е.В. Бабенко, Н.Е. Иванова, Ж.З. Рахманова, П.В. Кожокар, А.А. Осипова, Т.Л. Гиндина, Е.В. Семенова, А.Д. Кулагин, Л.С. Зубаровская

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

Инфузия донорских лимфоцитов (ИДЛ) с профилактической целью способствует усилению иммуноадаптивного противоопухолевого эффекта, за счет чего наблюдается снижение рисков возникновения рецидива после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) у пациентов с острыми лейкозами. Одним из основных лимитирующих факторов при использовании ИДЛ является риск развития реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). По данным исследований, частота возникновения данного осложнения после применения ИДЛ находится в диапазоне от 15 до 45% для острой РТПХ (оРТПХ) и от 10 до 50% для хронической формы (хрРТПХ). Развитие РТПХ после ИДЛ также приводит к усилению противоопухолевого эффекта и позволяет снизить риски возникновения рецидива. В то же время повышенный риск рецидива ассоциирован с потерей HLA-гетерозиготности после гаплоидентичной ТГСК, роль РТПХ в становлении этого состояния не изучена. В данном одноцентровом ретроспективном исследовании был выполнен сравнительный анализ рисков возникновения костномозговых и экстрамедуллярных рецидивов у пациентов детского возраста с острым лимфобластным и острым миелоидным лейкозами, которым проводилась ИДЛ с профилактической целью после аллогенной ТГСК, выполнена оценка тяжести течения ИДЛ-индуцированной оРТПХ, частоты развития и тяжести хрРТПХ, а также исследован вопрос связи оРТПХ с потерей HLA-гетерозиготности. Было сформировано 2 группы пациентов: в основную группу вошли пациенты, получившие профилактические ИДЛ ($n = 41$), в группу сравнения – пациенты, не получившие их ($n = 46$). Получено согласие пациентов/законных представителей на включение в исследование. Протокол (№249 от 31.05.2021) зарегистрирован в этическом комитете ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. Все пациенты были разделены на 4 подгруппы в зависимости от применения ИДЛ и развития оРТПХ: +ИДЛ – с ИДЛ без оРТПХ ($n = 34$); +ИДЛр – с ИДЛ-индуцированной оРТПХ ($n = 7$); –ИДЛ – без ИДЛ и оРТПХ ($n = 34$); –ИДЛр – без ИДЛ и с оРТПХ в анамнезе ($n = 12$). Всего зафиксировано 7 (17%) случаев ИДЛ-индуцированной оРТПХ. Не было обнаружено статистически значимых различий при поражении желудочно-кишечного тракта ($p = 1$) и печени ($p = 0,75$) в 2 группах, в группе без ИДЛ оказалось больше пациентов с III–IV степенью поражения кожных покровов ($p = 0,06$). Не было зафиксировано ни одного летального исхода, связанного с течением ИДЛ-индуцированной РТПХ. Медиана числа использованных линий терапии оРТПХ (2 (1–4) и 1 (1–2); $p = 0,2$) и времени терапии данного осложнения (63 (23–1455) дня и 70 (44–111) дней; $p = 0,72$) были схожими в 2 группах. Частота развития хрРТПХ в группе с ИДЛ ($n = 7$; 17%) и в группе сравнения ($n = 12$; 26%) значимо не различались ($p = 0,45$). При развитии оРТПХ было обнаружено статистически значимое снижение кумулятивной частоты костномозговых рецидивов у пациентов как после применения ИДЛ, так и без ее использования (–ИДЛ 63% (95% доверительный интервал (ДИ) 43–77), +ИДЛ 41% (95% ДИ 24–57), –ИДЛр 21% (95% ДИ 5–46), +ИДЛр 14% (95% ДИ 1–50%) ($p = 0,003$)). Не зафиксировано значимых различий в кумулятивной частоте экстрамедуллярных рецидивов в исследуемых группах, значения которой уложились в диапазон 16–29% ($p = 0,8$). Общая выживаемость у пациентов из подгрупп с оРТПХ (–ИДЛр и +ИДЛр) составила 86% (95% ДИ 33–98) и 84% (95% ДИ 50–96) соответственно и статистически значимо отличалась от подгрупп без оРТПХ (+ИДЛ и –ИДЛ): 54% (95% ДИ 35–70%) и 38% (95% ДИ 20–56) соответственно ($p = 0,012$). Среди 55 пациентов с установленным рецидивом в посттрансплантационном периоде оценка потери HLA-гетерозиготности была проведена в 22 (40%) случаях. Из них потеря HLA-гаплотипа зафиксирована у 7 (32%) пациентов: 3 (42,9%) были из подгруппы +ИДЛ, 2 (28,6%) – из подгруппы –ИДЛ и 2 (28,6%) – из подгруппы –ИДЛр. Из 15 человек без потери HLA предшествующая оРТПХ была у 1 (6,7%) пациента без проведения ИДЛ в анамнезе ($p = 0,57$). Таким образом, ИДЛ с профилактической целью у детей с острым лимфобластным и острым миелоидным лейкозами показывает свою эффективность в предотвращении возникновения костномозговых рецидивов после аллогенной ТГСК. Развитие оРТПХ обладает потенцирующим эффектом, приводя к усилению иммуноадаптивной активности донорских лимфоцитов. Тяжесть и характер ИДЛ-индуцированной оРТПХ в детской возрастной группе значимо не отличаются от классической формы данного осложнения, развивающегося в ранние сроки после трансплантации.

Ключевые слова: инфузия донорских лимфоцитов, реакция «трансплантат против хозяина», дети, острый лейкоз, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

Левковский Н.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 95–106. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-95-106

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 26.09.2024
Принята к печати 25.10.2024



EDN: LYNVQK

Контактная информация:

Левковский Никита Вячеславович,
врач-педиатр НИИ детской онкологии,
гематологии и трансплантологии
им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО ПСПбГМУ
им. И.П. Павлова Минздрава России
Адрес: 197022, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, 6/8
E-mail: levkovsky.nv@gmail.com

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 26.09.2024

Accepted 25.10.2024

Immunoadoptive effect of donor lymphocyte infusion-induced acute graft-versus-host disease in children with acute leukemia

N.V. Levkovsky, L.A. Tsvetkova, O.V. Paina, A.V. Evdokimov, I.M. Barkhatov, O.S. Epifanovskaya, E.V. Babenko, N.E. Ivanova, Zh.Z. Rakhmanova, P.V. Kozhokar, A.A. Osipova, T.L. Gindina, E.V. Semenova, A.D. Kulagin, L.S. Zubarovskaya

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

Correspondence:

Nikita V. Levkovsky,

a pediatrician at the R.M. Gorbacheva

Research Institute for Pediatric Oncology,

Hematology and Transplantation

of the I.P. Pavlov First Saint Petersburg State

Medical University, Ministry of Healthcare

of the Russian Federation

Address: 6/8 Leo Tolstoy St., 197022,

Saint Petersburg, Russia

E-mail: levkovsky.nv@gmail.com

Donor lymphocyte infusion (DLI) for prophylactic purposes enhances the immunoadoptive antitumor effect, thereby reducing the risk of relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in patients with acute leukemia. One of the main limiting factors for the use of DLI is the risk of developing graft-versus-host disease (GVHD). According to studies, the incidence of this complication of DLI ranges from 15% to 45% for acute GVHD (aGVHD) and from 10% to 50% for the chronic form. The development of GVHD after DLI also leads to enhancement of the antitumor effect and reduces the risk of relapse. At the same time, an increased risk of relapse is associated with the loss of HLA heterozygosity after haploidentical HSCT, and the role of GVHD in this process has not been investigated yet. In this single-center retrospective study, we performed a comparative analysis of the risk of bone marrow and extramedullary relapses in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia and acute myeloid leukemia who had received prophylactic DLI after allogeneic HSCT. We also assessed the severity of DLI-induced aGVHD and the incidence and severity of chronic GVHD, and investigated the relationship between aGVHD and the loss of HLA heterozygosity. We identified two groups of patients: those who had received prophylactic DLI (an intervention group; $n = 41$) and those who had not (a comparison group; $n = 46$). Informed consent to the inclusion in the study was obtained from all the patients/legal representatives. Protocol (No. 249 dated 31.05.2021) was registered in the Ethics Committee of the I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation. All the patients were divided into four subgroups according to the use of IDL and the development of aGVHD: +DLI – patients with DLI and without aGVHD ($n = 34$); +DLI_{GVHD} – patients with DLI-induced aGVHD ($n = 7$); –DLI – patients without DLI and aGVHD ($n = 34$); –DLI_{GVHD} – patients without DLI and with a history of aGVHD ($n = 12$). A total of 7 (17%) cases of DLI-induced aGVHD were recorded. There were no statistically significant differences in the incidence and severity of gastrointestinal tract involvement ($p = 1$) and liver involvement ($p = 0.75$) between the 2 groups. The incidence of grade III–IV skin GVHD ($p = 0.06$) was higher in the non-DLI group. No deaths associated with DLI-induced GVHD were recorded. The median number of aGVHD treatment lines (2 (1–4) and 1 (1–2); $p = 0.2$) and the duration of treatment (63 (23–145) days and 70 (44–111) days; $p = 0.72$) were similar in the 2 groups. The incidence of chronic GVHD in the DLI group ($n = 7$; 17%) and in the comparison group ($n = 12$; 26%) did not differ significantly ($p = 0.45$). The cumulative incidence of bone marrow relapses was significantly lower in those patients who developed aGVHD, after DLI or without DLI (–DLI 63% (95% confidence interval (CI) 43–77), +DLI 41% (95% CI 24–57), –DLI_{GVHD} 21% (95% CI 5–46), +DLI_{GVHD} 14% (1–50%)) ($p = 0.003$). There were no significant differences between the study groups in terms of the cumulative incidence of extramedullary relapses that ranged from 16% to 29% ($p = 0.8$). The overall survival of the patients with aGVHD (from the –DLI_{GVHD} and +DLI_{GVHD} groups) was 86% (95% CI 33–98) and 84% (95% CI 50–96), respectively, and it was statistically significantly different from the overall survival of the patients without aGVHD: 54% (95% CI 35–70) and 38% (95% CI 20–56) in the +DLI and –DLI subgroups, respectively ($p = 0.012$). The loss of HLA heterozygosity was evaluated in 22 (40%) out of 55 patients with a post-transplant relapse. In total, HLA haplotype loss was detected in 7 (32%) patients, 3 of whom were from the +DLI group (42.9%), 2 from the –DLI group (28.6%), and another 2 from the –DLI_{GVHD} group (28.6%). Out of 15 individuals without HLA loss, one patient (6.7%) had a history aGVHD and did not receive DLI ($p = 0.57$). Thus, prophylactic DLI in children with acute lymphoblastic leukemia and acute myeloid leukemia is shown to be effective in preventing bone marrow relapses after allogeneic HSCT. The development of aGVHD has a potentiating effect resulting in increased immunoadoptive activity of donor lymphocytes. The severity and clinical manifestations of DLI-induced aGVHD in pediatric patients do not differ significantly from those patients who develop classical aGVHD early after transplantation.

Key words: donor lymphocyte infusion, graft-versus-host disease, children, acute leukemia, hematopoietic stem cell transplantation

Levkovsky N.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 95–106.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-95-106

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) является основным методом лечения у детей с острым миелоидным (ОМЛ) и острым лимфобластным (ОЛЛ) лейкозами группы высокого риска [1, 2]. В случае отсутствия стойкой ремиссии или при рецидивирующем течении заболевания перед алло-ТГСК отмечается повышение рисков развития рецидива в посттрансплантационном периоде [3]. Прогноз для пациентов с рецидивом после алло-ТГСК крайне неблагоприятный. Результаты крупных многоцентровых исследований демонстрируют схожие показатели общей выживаемости (ОВ) для пациентов с ОЛЛ и ОМЛ, значения которых на двухлетнем промежутке составляют менее 20% [4, 5]. Одним из ключевых моментов в оценке алло-ТГСК как метода терапии злокачественных заболеваний, позволяющих снизить риски возникновения рецидива, стало понимание роли донорских Т-клеток, оказывающих иммуноадоптивный противоопухолевый эффект [6]. Реакция «трансплантат против лейкоза» представляет собой аллореактивный ответ, обеспечивающий

контроль над заболеванием посредством распознавания опухоль-ассоциированных антигенов эффекторными Т-клетками донорского происхождения [7]. Следующим шагом изучения этого эффекта стала разработка метода использования донорских лимфоцитов в качестве адоптивной иммунотерапии после алло-ТГСК. Первая публикация, показавшая эффективность применения инфузии донорских лимфоцитов (ИДЛ) для лечения пациентов с рецидивом хронического миелоидного лейкоза после алло-ТГСК датируется 1990 г. [8]. В зависимости от показаний к терапии ИДЛ делятся на терапевтические (при доказанном рецидиве или прогрессии после алло-ТГСК), превентивные (в случае развития смешанного химеризма, персистенции минимальной остаточной болезни (МОБ) или при детекции молекулярного или цитогенетического рецидива заболевания), а также профилактические (для пациентов с изначально высокими рисками рецидива после алло-ТГСК в отсутствие признаков активного заболевания и при полном донорском химеризме) [9]. При сравнительном анализе профилактические ИДЛ

показали свою эффективность у взрослых пациентов с ОЛЛ и ОМЛ после алло-ТГСК от полностью HLA-совместимого родственного или неродственного донора, повысив показатель безрецидивной выживаемости с 35 до 62% [10]. Схожие результаты были продемонстрированы при исследовании ИДЛ с профилактической целью у пациентов с различными злокачественными новообразованиями, где ОМЛ и ОЛЛ составили 60% от общей группы, отмечалось повышение значений выживаемости без прогрессирования (ВБП) с 25 до 54% [11].

Лимитирующим фактором при использовании ИДЛ является риск развития реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Частота острой РТПХ (оРТПХ), по результатам различных исследований, находится в диапазоне от 15 до 45% [12–15]. По данным этих исследований, анализ распределения степеней тяжести в случае ИДЛ-индуцированной РТПХ показывает, что значимую часть занимает II–IV степень тяжести, которая развивается в 30–40% случаев и является одной из причин, приводящих к увеличению рисков безрецидивной смертности. Использование миелоаблативного режима кондиционирования является негативным фактором прогноза для возникновения ИДЛ-индуцированной оРТПХ. Встречаемость хронической РТПХ (хрРТПХ) после ИДЛ различна в зависимости от показаний ее применения [13, 15]. В случае использования превентивной и терапевтической стратегии у взрослых пациентов частота хрРТПХ не превышает 25%, однако терапевтическое введение увеличивает риски до 53%. Около половины этих пациентов имели распространенную форму осложнения. При исследовании профилактической процедуры ИДЛ у детей с ОМЛ и миелодиспластическим синдромом частота возникновения средней/тяжелой хрРТПХ составила 8% [16].

В то же время развитие хрРТПХ после ИДЛ позволяет снизить риски возникновения рецидива [17]. С другой стороны, РТПХ может быть связана с повышенным риском развития рецидива, ассоциированным с потерей HLA-гетерозиготности [18]. Таким образом, ввиду перспективы более широкого применения ИДЛ у пациентов с острым лейкозом высокой группы риска представляет интерес анализ взаимосвязи РТПХ и реакции «трансплантат против лейкоза» у детей после алло-ТГСК, получивших и не получивших профилактические ИДЛ. Повышенный риск рецидива, ассоциированный с потерей HLA-гетерозиготности после гаплоидентичной ТГСК (гапло-ТГСК), и роль РТПХ в становлении этого состояния также требуют изучения.

Цель исследования – оценить клиническое значение оРТПХ и хрРТПХ у детей с острыми лейкозами, получивших профилактические ИДЛ, в сравнении с пациентами, не получившими их, в том

числе риск потери HLA-гетерозиготности после гапло-ТГСК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Было проведено одноцентровое ретроспективное исследование на базе НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой. В исследование включены пациенты до 18 лет, прошедшие первую алло-ТГСК в целях терапии ОЛЛ или ОМЛ. Получено согласие пациентов/законных представителей на включение в исследование. Протокол (№249 от 31.05.2021) зарегистрирован в этическом комитете ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. В основную группу были отобраны пациенты ($n = 41$), получившие профилактические ИДЛ, в группу сравнения – пациенты ($n = 46$), не получившие их. Медиана возраста в основной группе составила 11 (4–17) лет, в группе сравнения – 9 (0,5–17) лет. Обе группы были схожи по клиническим характеристикам, таким как пол, диагноз, статус на момент алло-ТГСК, тип донора, источник трансплантата, режим кондиционирования и способ профилактики РТПХ.

В группу без профилактического применения ИДЛ вошли 38 (82,6%) пациентов с ОЛЛ и 8 (17,4%) – с ОМЛ, в основную группу – 33 (80,5%) пациента с ОЛЛ и 8 (19,5%) – с ОМЛ. Вне ремиссии в группе без ИДЛ трансплантация была выполнена 23 (50%) пациентам, в первой МОБ-позитивной ремиссии – 8 (17,4%), во второй МОБ-негативной ремиссии – 15 (32,6%). В группе с профилактическим введением лимфоцитов у 16 (39%) детей на момент ТГСК была зафиксирована ремиссия, у 23 (56,1%) – вторая МОБ-негативная ремиссия, у 2 (4,9%) – вторая ремиссия с положительным статусом МОБ. Миелоаблативный режим кондиционирования в группе без ИДЛ был проведен 25 (54,3%) пациентам, немиелоаблативный – 21 (45,7%), в основной группе – 19 (46,3%) и 22 (53,7%) пациентам соответственно. Миелоаблативным режим кондиционирования определялся в случае применения бусульфана в общей дозировке > 9 мг/кг или треосульфана в общей дозировке 40 г/м² (при площади поверхности тела $\leq 0,5$ м²), 42 г/м² (при площади поверхности тела $> 0,5$ – $1,0$ м²) и 46 г/м² (при площади поверхности тела $> 1,0$ м²), а также в случае использования тиотепы. Кондиционирование на основе треосульфана получили 1 пациент с ИДЛ и 3 – без проведения данной процедуры. Остальным пациентам было выполнено кондиционирование на основе бусульфана. В основе немиелоаблативных режимов лежало использование мелфалана в суммарной дозе 140 мг/м².

Подавляющему большинству пациентов в обеих группах (42 (91,3%) в группе без ИДЛ и 38 (92,7%)

в группе с ИДЛ) осуществлялась профилактика РТПХ на основе посттрансплантационного циклофосфамида. Посттрансплантационный циклофосфамид в качестве режима профилактики РТПХ вводился на дни +3 и +4 после алло-ТГСК в дозировке 50 мг/кг/сут в комбинации с ингибиторами кальциневрина, а также ингибиторами m-TOR (сиролимус) или микофенолата мофетиллом. Режимы без введения циклофосфамида основывались на длительном приеме ингибиторов кальциневрина (такролимус или циклоспорин А) в комбинации с метотрексатом и/или микофенолата мофетиллом, у 3 пациентов в группе без ИДЛ также использовалась серопротекция при помощи антитимоцитарного глобулина. В качестве bridge-терапии у пациентов без введения лимфоцитов в 7 (15%) случаях был использован блинатумомаб, у 3 (6,5%) – инотузумаб озогамидин, у 2 (4%) – блинатумомаб и инотузумаб озогамидин. В группе с ИДЛ перед трансплантацией блинатумомаб был использован у 2 (5%) пациентов, инотузумаб озогамидин – у 5 (12%), гемтузумаб озогамидин – у 2 (5%) и блинатумомаб с инотузумабом озогамидином – у 1 (2%). Подробные характеристики исследуемой когорты представлены в таблице 1.

В дальнейшем были выделены подгруппы пациентов, у которых фиксировалось развитие оРТПХ. В итоге пациенты были распределены на 4 группы: +ИДЛ – группа пациентов, которым выполнялась профилактическая ИДЛ и у кого не было зафиксировано развитие оРТПХ ($n = 34$); +ИДЛr – группа пациентов, которым выполнялась профилактическая ИДЛ и у кого была зафиксирована оРТПХ ($n = 7$); –ИДЛ – группа пациентов без профилактической ИДЛ и у кого не развилась оРТПХ ($n = 34$); –ИДЛr – группа пациентов без профилактической ИДЛ и у кого была диагностирована оРТПХ ($n = 12$). Наличие оРТПХ кожи I степени в анамнезе перед началом введения донорских лимфоцитов было зафиксировано у 2 (29%) пациентов из группы +ИДЛr и у 5 (15%) – в группе +ИДЛ ($p > 0,05$).

Диагностика и стадирование оРТПХ производились согласно критериям консенсусной конференции по классификации оРТПХ [19]. Полный ответ (ПО) на терапию оРТПХ определялся как разрешение всех клинических симптомов по всем вовлеченным органам, частичный ответ (ЧО) фиксировался при улучшении клинической симптоматики хотя бы по одному вовлеченному органу, без прогрессирования других локусов и без присоединения нового пораженного локуса, отсутствие ответа диагностировалось при недостижении ПО/ЧО или при прогрессировании клинической симптоматики хотя бы по одному органу. Диагностика и стадирование хрРТПХ производились на основе критериев NIH (National Institute of Health) от 2005 г. [20].

Полная ремиссия основного заболевания на момент алло-ТГСК констатировалась в случае присутствия бластных клеток в костном мозге менее 5% и отсутствии экстрамедуллярных поражений. Статус МОБ определялся при помощи многоцветной (8-цветной) многопараметрической проточной цитометрии, полимеразной цепной реакции или флуоресцентной гибридизации *in situ*.

До начала ИДЛ производилась полная отмена иммуносупрессивной терапии. Процедура ИДЛ произ-

Таблица 1
Характеристики исследуемой когорты пациентов

Table 1
Characteristics of the study cohort

Параметр Parameter	Группа без ИДЛ Non-DLI group	Группа с ИДЛ DLI group	p
Пол, n (%): Sex, n (%): мужской male женский female	26 (56,5) 20 (43,5)	18 (43,9) 23 (56,1)	0,34
Диагноз, n (%): Diagnosis, n (%): ОЛЛ ALL ОМЛ AML	38 (82,6) 8 (17,4)	33 (80,5) 8 (19,5)	1,0
Статус до ТГСК, n (%): Status before HSCT, n (%): ремиссия remission вне ремиссии out of remission	23 (50,0) 23 (50,0)	25 (61,0) 16 (39,0)	0,417
Донор, n (%): Donor, n (%): MRD MUD MMUD Haplo	8 (17,4) 4 (8,7) 0 (0,0) 34 (73,9)	10 (24,4) 3 (7,32) 1 (2,44) 27 (65,9)	0,66
Источник ГСК, n (%): HSC source, n (%): костный мозг bone marrow ПСКК PBSC	38 (82,6) 8 (17,4)	33 (80,5) 8 (19,5)	1,00
Режим кондиционирования, n (%): Conditioning regimen, n (%): немиелоаблативный non-myeoablative миелоаблативный myeoblative	21 (45,7) 25 (54,3)	22 (53,7) 19 (46,3)	0,596
Профилактика РТПХ, n (%): GVHD prophylaxis, n (%): ptCy другое other	42 (91,3) 4 (8,7)	38 (92,7) 3 (7,32)	1,00
Bridge-терапия, n (%): Bridge therapy, n (%): блинатумомаб blinatumomab инотузумаб озогамидин inotuzumab ozogamicin гемтузумаб озогамидин gemtuzumab ozogamicin блинатумомаб + инотузумаб озогамидин blinatumomab + inotuzumab ozogamicin	7 (15,2) 3 (6,5) 0 (0,0) 2 (4,3)	2 (4,9) 5 (12,2) 2 (4,9) 1 (2,4)	0,141

Примечание. MRD – полностью HLA-совместимый родственный донор; MUD – полностью HLA-совместимый неродственный донор; MMUD – частично HLA-совместимый неродственный донор; Haplo – гаплоидентичный родственный донор; ГСК – гемопоэтические стволовые клетки; ПСКК – периферические стволовые клетки крови; ptCy – посттрансплантационный циклофосфамид.

Notes. DLI – donor lymphocyte infusions; HSCT – hematopoietic stem cell transplantation; MRD – fully HLA-matched related donor; MUD – fully HLA-matched unrelated donor; MMUD – partially HLA-matched unrelated donor; Haplo – haploidentical related donor; HSC – hematopoietic stem cells; PBSC, peripheral blood stem cells; GVHD – graft-versus-host disease; ptCy – post-transplant cyclophosphamide.

водилась с эскалацией дозировки вводимых клеток. В случае развития оРТПХ или рецидива основного заболевания ИДЛ прекращалась. Детальная характеристика процедур ИДЛ представлена в *таблице 2*.

Первичной конечной точкой была оценка кумулятивной частоты костномозговых, экстрамедуллярных рецидивов и общей частоты рецидивов в каждой анализируемой группе. Вторичными конечными точками являлись ОБ и ВБП, число линий терапии оРТПХ, время терапии и лучший ответ на терапию оРТПХ, а также риски возникновения и тяжесть хрРТПХ.

Помимо этого, у пациентов, разивших рецидив после гапло-ТГСК, было выполнено сравнение частоты потери HLA-гетерозиготности в каждой группе. Потеря HLA-гетерозиготности оценивалась путем анализа 12 STR-фрагментов, расположенных на коротком плече хромосомы 6: D6S265, D6S473, D6S277, D6S105, D6S273, D6S291, D6S2674, D6S2675, D6S2664, D6S2876, D6S2661 и D6S2444.

Статистический анализ осуществлялся в программе R Studio, версия 2023.12.0+369. ОБ и ВБП были рассчитаны с использованием метода Каплана-Майера, сравнение между группами проводилось при помощи теста log-rank. Для оценки рисков возникновения рецидивов применялся метод кумулятивных частот, для группового сравнения использовался критерий Грея. Анализ непараметрических данных был выполнен с использованием точного теста Фишера. Сравнение количественных переменных производилось при помощи теста Манна-Уитни. Достоверными считались различия при значениях $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка эффективности профилактических инфузий донорских лимфоцитов

Медиана времени наблюдения составила 436 (19–7644) дней. ОБ у пациентов с профилактическим применением ИДЛ составила 60% (95% доверительный интервал (ДИ) 43–74) и значимо не отличалась от группы сравнения 53% (95% ДИ 36–66) ($p = 0,3$).

Было обнаружено снижение кумулятивной частоты возникновения костномозговых рецидивов через 500 дней после алло-ТГСК в группе с ИДЛ – 50% (95% ДИ 35–64) против 37% (95% ДИ 22–51) в группе сравнения ($p = 0,058$). При учете костномозговых и экстрамедуллярных рецидивов различий в группах не наблюдалось: 59% (95% ДИ 42–72) и 57% (95% ДИ 41–70) ($p = 0,8$). По результатам анализа влияния основного диагноза на кумулятивную частоту костномозговых рецидивов в группе с профилактическим применением ИДЛ не зафиксировано статистически значимых отличий у пациентов с ОЛЛ 39% (95% ДИ 23–56) и ОМЛ 25% (95% ДИ 3–58) ($p = 0,54$). Однако отмечалась тенденция к повы-

шению кумулятивной частоты рецидивов у пациентов с ОЛЛ в сравнении с ОМЛ (67% (95% ДИ 47–80) и 25% (95% ДИ 3–58) ($p = 0,07$) при включении в анализ экстрамедуллярных рецидивов (*рисунок 1*).

Сравнение характеристик реакции «трансплантат против хозяина» у пациентов с инфузией донорских лимфоцитов и без нее

Всего зафиксировано 7 (17%) случаев ИДЛ-индуцированной оРТПХ: у 5 (71%) пациентов отмечалась II стадия, у 2 – I стадия. В 6 (86%) случаях оРТПХ развилась после первой ИДЛ, у 1 пациента данное осложнение проявилось после четвертого введения. Среди этих пациентов не отмечалось ни одного эпизода оРТПХ III–IV степени тяжести. У 6 (86%) пациентов была диагностирована оРТПХ кожи, из них 2 (29%) – с поражением III степени тяжести, 1 (14%) – с поражением I степени тяжести. У 3 (43%) детей было диагностировано вовлечение печени I степени тяжести. Ни у одного пациента не было отмечено вовлечения в патологический процесс желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). У пациентов без ИДЛ поражение кожи II степени было диагностировано в 2 (4,4%) случаях, III степени – в 10 (22%), IV степени – в 1 (2%). Вовлечение ЖКТ в данной группе было зафиксировано у 1 (2%) пациента, тяжесть поражения соответствовала III степени. Поражение печени отмечалось у 4 (8,7%) пациентов, 3 из них была выставлена I степень тяжести, 1 – III степень тяжести.

При сравнении частоты и тяжести поражения вовлеченных органов в подгруппах +ИДЛр и –ИДЛр не было обнаружено статистически значимых различий при поражении ЖКТ ($p = 1$) и печени

Таблица 2
Характеристика процедур ИДЛ

Table 2
Characteristics of DLI procedures

Параметр Parameter	ИДЛ (n = 34) DLI (n = 34)	ИДЛ + оРТПХ (n = 7) DLI + aGVHD (n = 7)	p
Количество ИДЛ, медиана (разброс) Number of DLIs, the median (range)	2,00 (1,00–6,00)	1,00 (1,00–4,00)	0,044
Суммарное количество CD ⁺ /кг, медиана (разброс), × 10 ⁶ Total number of CD ⁺ cells/kg, the median (range), × 10 ⁶	6,00 (0,10–175)	0,10 (0,10–66,0)	0,012
Количество CD ⁺ /кг при первом введении, медиана (разброс), × 10 ⁶ Cell dose of the first DLI, the median (range), × 10 ⁶ CD ⁺ cells/kg	1,00 (0,10–5,00)	0,10 (0,10–1,00)	0,009
Время первой ИДЛ, медиана (разброс), дни Duration of the first DLI, the median (range), days	106 (21,0–187)	108 (61,0–116)	0,69
Эскалация дозы ИДЛ, n (%): DLI dose escalation, n (%):			
нет no	13 (38,2)	6 (85,7)	0,036
да yes	21 (61,8)	1 (14,3)	

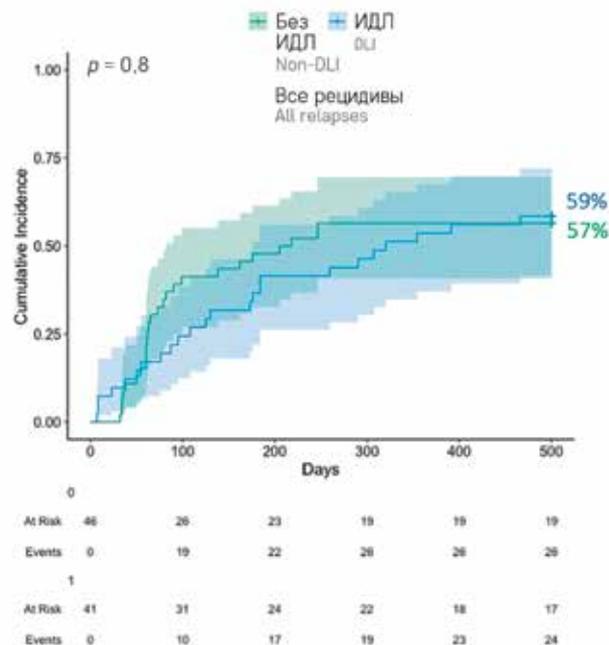
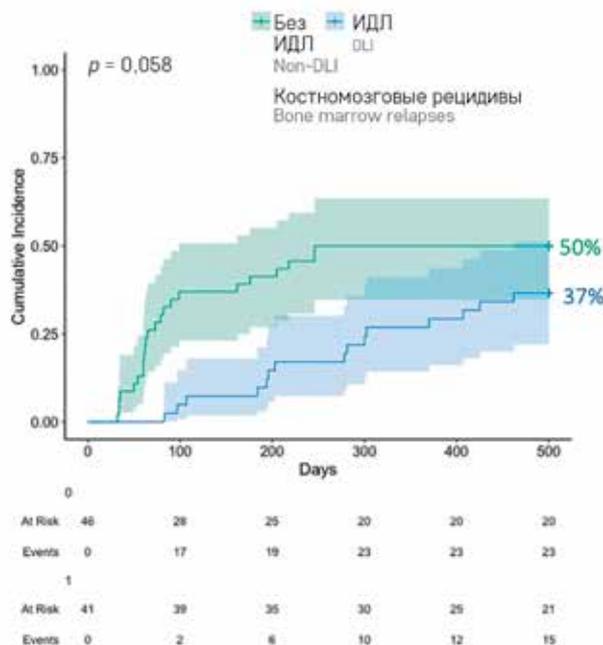
Notes. aGVHD – acute GVHD.

Рисунок 1

Кумулятивная частота развития рецидивов в группах с и без ИДЛ

Figure 1

The cumulative incidence of relapse in the DLI and non-DLI groups



($p = 0,75$), в подгруппе –ИДЛр превалировали пациенты с III степенью поражения кожи, а также у 1 пациента была диагностирована IV степень поражения кожных покровов ($p = 0,06$) (рисунок 2). Не было зафиксировано ни одного летального исхода, связанного с течением ИДЛ-индуцированной РТПХ.

У пациентов с профилактической ИДЛ и в группе сравнения не было обнаружено статистически значимых отличий в медиане числа использованных линий терапии оРТПХ (2 (1–4) и 1 (1–2); $p = 0,2$) и времени терапии данного осложнения (63 (23–1455) дня и 70 (44–111) дней; $p = 0,72$). Среди пациентов из группы –ИДЛр у всех был достигнут ПО на терапию оРТПХ, в группе +ИДЛр у 1 (14%) лучшим достигнутым ответом был ЧО, у 1 (14%) отмечалось отсутствие ответа и появление симптоматики хрРТПХ, статистически значимых отличий в распределении лучшего ответа на терапию не было обнаружено ($p = 0,1$).

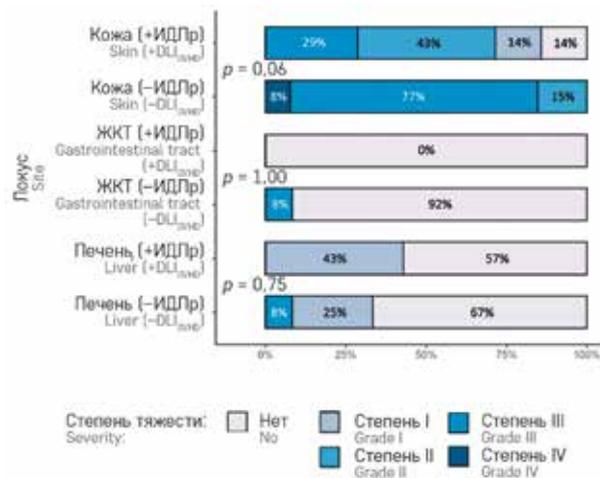
Частота развития хрРТПХ в группе с ИДЛ ($n = 7$; 17%) и в группе сравнения ($n = 12$; 26%) значимо не различалась ($p = 0,45$). Присутствие в анамнезе оРТПХ приводило к статистически значимому повышению частоты хрРТПХ в обеих группах: в подгруппе –ИДЛр хрРТПХ была зафиксирована у 8 (57%) пациентов, в подгруппе +ИДЛр – у 5 (71%), в подгруппе –ИДЛ – у 4 (12%), в подгруппе +ИДЛ – у 2 (6%); $p = 0,001$).

В группе пациентов с профилактическим применением ИДЛ не было зафиксировано ни одного случая тяжелой хрРТПХ (71% ($n = 6$) – средняя степень тяжести, 29% ($n = 1$) – легкая степень

Рисунок 2

Сравнение частоты и тяжести поражения органов в подгруппах +ИДЛр и –ИДЛр

Figure 2

A comparison of the frequency and severity of organ involvement in the patients with acute GVHD with and without prophylactic DLI (+DLI_{GVHD} and –DLI_{GVHD})

тяжести), при этом распределение степеней тяжести поражения органов статистически значимо не отличалось от группы сравнения (17% ($n = 2$) – легкая степень, 33% ($n = 4$) – средняя степень, 50% ($n = 6$) – тяжелая степень) ($p = 0,1$).

Клиническое значение реакции «трансплантат против хозяина», индуцированной инфузией донорских лимфоцитов

По результатам анализа влияния развития оРТПХ было обнаружено статистически значимое

снижение кумулятивной частоты костномозговых рецидивов у пациентов, развивших оРТПХ как после ИДЛ, так и без ИДЛ. При этом наименьшая кумулятивная частота рецидивов наблюдалась при развитии ИДЛ-индуцированной оРТПХ: –ИДЛ 63% (95% ДИ 43–77), +ИДЛ 41% (95% ДИ 24–57), –ИДЛр 21% (95% ДИ 5–46), +ИДЛр 14% (1–50) ($p = 0,003$). У пациентов без оРТПХ также наблюдались значимые различия в виде снижения кумулятивной частоты рецидива в случае применения профилактических ИДЛ ($p = 0,01$) (рисунок 3А). Не зафиксировано значимых различий в кумулятивной частоте экстрамедуллярных рецидивов в исследуемых группах, значения которой уложились в диапазон 16–29% ($p = 0,8$) (рисунок 3Б). При анализе как костномозговых, так и экстрамедуллярных рецидивов отмечалось снижение влияния процедуры ИДЛ у пациентов без оРТПХ: 69% (95% ДИ 49–82) в подгруппе –ИДЛ и 65% (95% ДИ 46–79) в подгруппе +ИДЛ. Однако сохранялось значение фактора оРТПХ, развившейся как после ИДЛ, так и без ИДЛ по сравнению с соответствующими подгруппами без оРТПХ: +ИДЛр 29% (95% ДИ 3–64) и –ИДЛр 29% (95% ДИ 8–53) ($p = 0,03$) (рисунок 3В).

Развитие оРТПХ оказалось положительным прогностическим фактором, ОВ в подгруппах –ИДЛр и +ИДЛр составила 86% (95% ДИ 33–98%) и 84% (95% ДИ 50–96) соответственно и статистически значимо отличалась от подгрупп +ИДЛ и –ИДЛ: 54% (95% ДИ 35–70) и 38% (95% ДИ 20–56) соответственно ($p = 0,012$) (рисунок 4).

ВБП при учете только костномозговых рецидивов составила 79% (95% ДИ 47–93) в подгруппе –ИДЛр, 71% (95% ДИ 26–92) в подгруппе +ИДЛр, 47% (95% ДИ 30–63) в подгруппе +ИДЛ и 28% (95% ДИ 14–44) в подгруппе –ИДЛ ($p < 0,001$). При включении в анализ как костномозговых, так и экстрамедуллярных рецидивов отмечалось закономерное снижение различий в значениях ВБП в подгруппах –ИДЛ 28% (95% ДИ 13–44) и +ИДЛ 31% (95% ДИ 16–47), однако сохранялось положительное влияние наличия оРТПХ: ВБП для подгруппы –ИДЛр составила 70% (95% ДИ 39–88), а для подгруппы +ИДЛр – 71% (95% ДИ 26–92) ($p = 0,014$) (рисунок 5).

Оценка частоты развития потери HLA-гетерозиготности

Среди 55 пациентов с установленным рецидивом в посттрансплантационном периоде была проведена оценка потери HLA-гетерозиготности в 22 (40%) случаях. Из них потеря HLA-гаплотипа зафиксирована у 7 (32%) пациентов, из которых 3 (42,9%) были из подгруппы +ИДЛ, 2 (28,6%) – из подгруппы –ИДЛ и 2 (28,6%) – из подгруппы –ИДЛр. Из 15 человек без потери HLA-гетерозиготности предшествующая оРТПХ была у 1 (6,7%) пациента, не получавшего ранее ИДЛ ($p = 0,57$) (таблица 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

После первых опубликованных результатов об эффективности применения ИДЛ для терапии

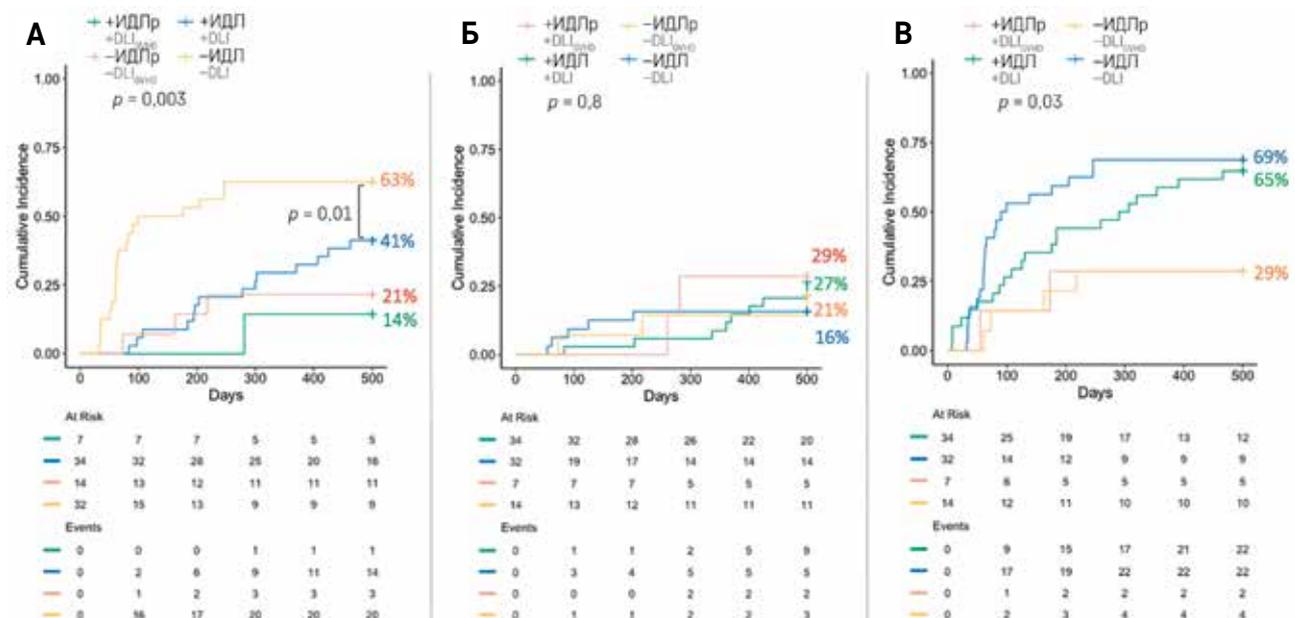
Рисунок 3

Оценка кумулятивной частоты рецидивов в подгруппах пациентов: А – только костномозговые рецидивы; Б – только экстрамедуллярные рецидивы; В – все типы рецидивов

Figure 3

The cumulative incidence of relapses in the groups of patients: А – bone marrow relapses only; Б – extramedullary relapses only; В – all types of relapses

+DLI – patients with prophylactic DLI and without acute GVHD; –DLI – patients without prophylactic DLI and acute GVHD



рецидива хронического миелоидного лейкоза было проведено множество исследований, расширивших спектр нозологий, а также показаний для применения данного метода [21]. Использование процедуры ИДЛ зарекомендовало себя в качестве действенной профилактической опции в отношении рецидивов после алло-ТСГК у паци-

ентов со злокачественными заболеваниями миелоидного происхождения, увеличивая показатели выживаемости без лейкоза практически в 2 раза (68% против 38%) [14].

Данных об эффективности профилактических ИДЛ при ОЛЛ значимо меньше. В работе, изучающей ИДЛ в качестве профилактической стратегии у 14 взрослых пациентов с ОЛЛ в первой ремиссии заболевания после использования миелоаблативного кондиционирования на основе тотального облучения и *in vivo* деплеции с применением алемтузумаба в качестве профилактики РТПХ, двухлетние кумулятивные риски рецидива оказались на уровне 16% [22]. В смешанной когорте пациентов с ОМЛ и ОЛЛ с долей последнего диагноза 27% профилактическая ИДЛ увеличила показатель ВБП относительно группы сравнения с 35 до 62%, однако в исследовании не приводятся результаты в зависимости от типа нозологии [10]. В работе P. Tsigotis и соавт. повторные

Рисунок 4
ОВ пациентов в зависимости от ИДЛ и развития ОРТПХ

Figure 4
The overall survival in the patients according to the use of DLI and the presence of aGVHD

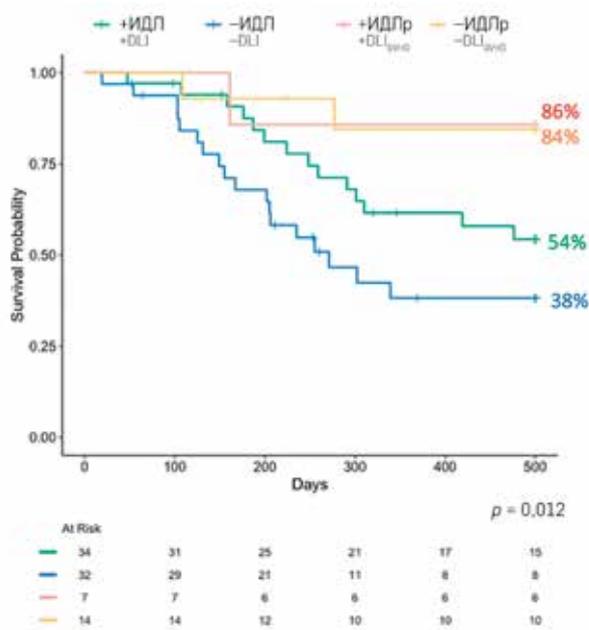


Рисунок 5
ВБП у пациентов в зависимости от ИДЛ и развития ОРТПХ: А – с учетом только костномозговых рецидивов; Б – с учетом костномозговых и экстрамедуллярных рецидивов

Figure 5
The progression-free survival in the patients according to the use of DLI and the development of aGVHD: A – bone marrow relapses only; Б – bone marrow and extramedullary relapses

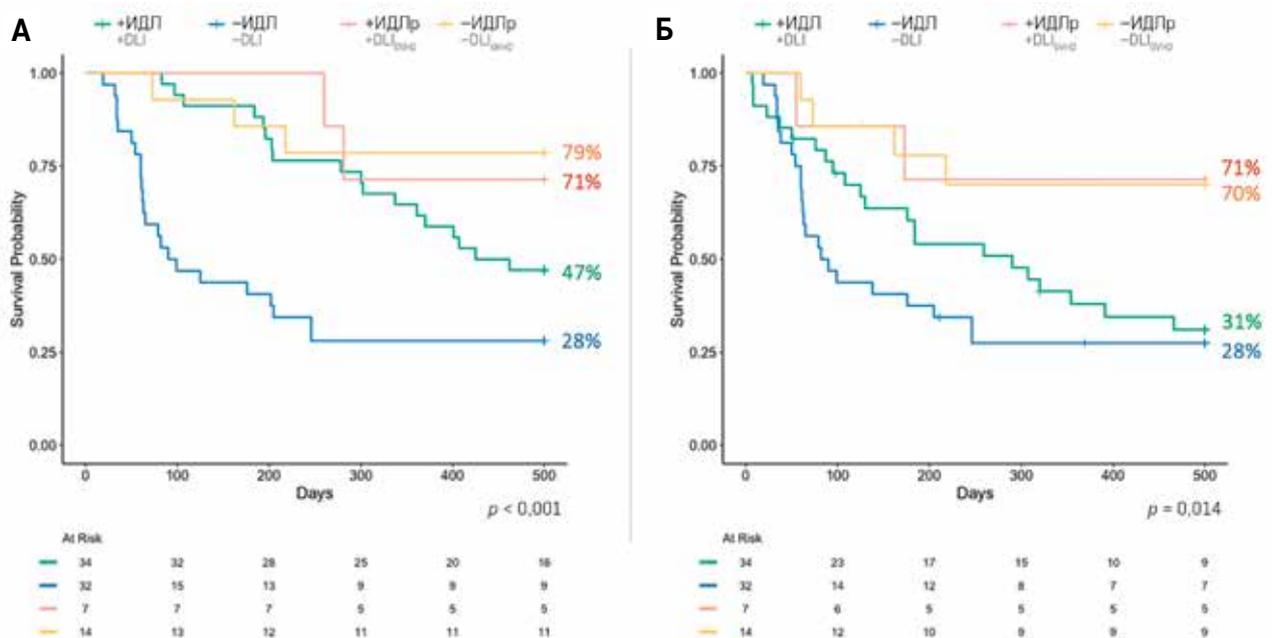


Таблица 3
Частота потери HLA-гаплотипа в подгруппах пациентов

Table 3
The frequency of HLA haplotype loss in the groups of patients

Подгруппа Group	Без потери HLA-гаплотипа No loss of HLA haplotype	Потеря HLA-гаплотипа Loss of HLA haplotype	p
+ИДЛ, n (%) +DLI, n (%)	8 (53,3)	3 (42,9)	0,567
-ИДЛ, n (%) -DLI, n (%)	6 (40,0)	2 (28,6)	
-ИДЛр, n (%) -DLI(aGVHD), n (%)	1 (6,67)	2 (28,6)	

введения профилактических ИДЛ в дозе $2,0 \times 10^6$ CD3⁺/кг в течение 3 лет после алло-ТГСК у пациентов с ОМЛ и ОЛЛ группы высокого риска позволили достичь ОВ 78% [23].

Стоит отметить, что важной характеристикой исследуемой группы реципиентов ИДЛ в нашей работе оказалось превалирование пациентов с ОЛЛ (80,5%). Помимо этого, 39% пациентов в группе реципиентов ИДЛ алло-ТГСК выполнялась вне ремиссии основного заболевания. Несмотря на это, показатели ОВ составили 60% при использовании профилактических ИДЛ.

Мы наблюдали различную эффективность ИДЛ в отношении костномозговых и экстрамедуллярных рецидивов. В общей когорте частота костномозговых рецидивов оказалась меньше в группе ИДЛ, однако данное различие нивелировалось при учете всех типов рецидива.

Из 41 пациента, которым выполнялись ИДЛ, оРТПХ зафиксирована у 7 человек, что составило 21%. Нами не было зафиксировано ни одного случая развития тяжелых форм (III–IV стадии), а также вовлечения в патологический процесс ЖКТ, несмотря на преобладание гаплогидентичного донора. Частота развития хрРТПХ в группах с применением ИДЛ составила 17%, не наблюдалось развития тяжелых форм. Также не было отмечено ни одного случая летального исхода, связанного с развитием ИДЛ-индуцированной РТПХ. Невысокая частота ИДЛ-индуцированной оРТПХ в нашем исследовании и отсутствие тяжелых форм могут быть объяснены использованием посттрансплантационного циклофосфида у большинства пациентов в качестве профилактики РТПХ. В крупном исследовании применения ИДЛ у взрослых пациентов с различными злокачественными заболеваниями после гаплогенотипной ТГСК с применением посттрансплантационного циклофосфида в качестве профилактики РТПХ, получивших ИДЛ с профилактической целью, оРТПХ была зафиксирована у 17%, а хрРТПХ – у 53%. При этом риски возникновения хрРТПХ у пациентов с профилактической целью были самыми высокими в сравнении с другими показателями. Среди пациентов, умерших от ассоциированных с трансплантацией осложнений, РТПХ стала причиной смерти в 30% случаев [15]. Определенно, ретроспективный характер исследования с подбором сопоставимой группы без проведения ИДЛ накладывает свои ограничения для сравнительного анализа частоты возникновения данного осложнения. В отношении частоты развития ИДЛ-индуцированной РТПХ у детей опубликованы результаты группы исследователей из Китая. В группу изучения применения профилактических ИДЛ у детей с ОМЛ и миелодиспластическим синдромом после гаплогенотипной ТГСК с посттрансплантационным циклофосфидом вошли

54 пациента. При оценке частоты возникновения РТПХ наблюдались противоположные результаты с большими рисками развития оРТПХ (37% для II–IV степени тяжести) и низкими рисками развития хрРТПХ (8% для умеренной/тяжелой форм). ОВ и выживаемость без рецидива и РТПХ составили 87 и 62% соответственно [16].

В качестве показателей для сравнения терапии РТПХ нами были выбраны медиана числа примененных линий терапии, медиана времени терапии, а также лучший достигнутый ответ на терапию. Мы не зафиксировали значимых отличий по данным критериям в 2 группах. Пациенты без ИДЛ, которым потребовалось более 2 линий терапии, закономерно имели III–IV стадии поражения. Один пациент, получивший ИДЛ и не ответивший на терапию оРТПХ, прогрессировал с развитием хрРТПХ средней степени тяжести с поражением кожных покровов и умеренной скованностью в лучезапястных и коленных суставах. На момент последнего обследования у него сохраняется полная ремиссия с отрицательным статусом МОБ.

Частота и тяжесть хрРТПХ в сравниваемых группах значимо не различались. Тем не менее наличие оРТПХ в анамнезе оказывало негативную прогностическую роль в отношении частоты развития хронической формы осложнения.

Основной концепцией, являющейся фундаментом для технологии ИДЛ, является усиление иммуноадаптивного эффекта алло-ТГСК, который ограничивается рисками развития РТПХ [24]. Давно замечено, что у пациентов, развивших РТПХ, отмечается снижение частоты рецидивов, однако только легкая степень данного осложнения обеспечивает преимущество в показателях выживаемости [25]. В нашем исследовании мы отмечаем значимое снижение рисков возникновения костномозговых рецидивов у пациентов, развивших оРТПХ как в группе с профилактической ИДЛ, так и без проведения данной терапии, демонстрируя эффект потенцирования иммуноадаптивного противоопухолевого ответа. Схожую закономерность отмечали исследователи из Великобритании в своей работе, акцентирующей внимание на ИДЛ-индуцированной РТПХ (введения выполнялись с превентивной и терапевтической целями). Риски развития рецидива у пациентов без данного осложнения составил 50%, с оРТПХ – 36%, а с хрРТПХ – 27%. Хотя различия оказались статистически незначимыми ($p = 0,29$), отмечалась тенденция к снижению частоты рецидива. При этом среди всех причин смерти у пациентов из данной когорты с развитием РТПХ были ассоциированы только 17% [26].

Мы не обнаружили значимых отличий в рисках возникновения экстрамедуллярных рецидивов вне зависимости от ИДЛ и развития РТПХ. Рецидивы

за пределами костного мозга остаются серьезной проблемой. Преодолевая физиологические барьеры для иммунных эффекторных клеток и, по всей видимости, создавая иммуносупрессивное микроокружение в очаге поражения, бластным клеткам удается снизить аллореактивное действие донорских лимфоцитов. Принимая во внимание устойчивость к стандартным методам иммунотерапии, возможной опцией для данной группы пациентов является применение модифицированных иммунных клеток с химерным антигеном (CAR-T). В работе по изучению использования анти-CD19 CAR-T на группе из 7 пациентов детского возраста с экстрамедуллярными рецидивами В-клеточного ОЛЛ (6 – с поражением центральной нервной системы, 1 – с поражением тестикул) у всех испытуемых удалось добиться ремиссии, 5 из которых смогли сохранить ее через 18 мес от начала лечения [27].

Развитие оРТПХ в нашем исследовании имело положительное прогностическое влияние на показатели ОВ. Мы отмечаем статистически значимое увеличение данного показателя вне зависимости от предшествующего применения ИДЛ (86% и 84% в группах с развитием РТПХ против 54% и 38% в группах без этого осложнения). Работа, опубликованная в 2010 г., в которой выполнялся анализ применения ИДЛ в качестве терапии рецидива хронического миелоидного лейкоза, выделяет развитие оРТПХ как значимый негативный прогностический фактор снижения ОВ (HR 2,25; 95% ДИ 1,4–3,7; $p = 0,001$) [28]. Высокие значения ОВ в проведенном нами исследовании, вероятнее всего, были обеспечены не только за счет снижения рисков возникновения рецидива, но также и за счет совершенствования методов терапии оРТПХ. Глубокое изучение клеточных и молекулярных механизмов данной патологии привело к появлению новых медикаментозных агентов, эффективно подавляющих аллореактивный иммунный ответ [29]. Благодаря этому за последние несколько лет арсенал клинициста значимо расширяется, позволяя достигнуть стойкого ответа на терапию даже у тяжелых пациентов с III–IV степенью поражения.

Мы также проанализировали взаимосвязь наличия оРТПХ и потери HLA-гетерозиготности в рецидиве заболевания. Нам не удалось выявить строгую закономерность между предшествующей оРТПХ и потерей HLA-гаплотипа у пациентов с рецидивом заболевания как механизма ухода от иммунного ответа. Несмотря на это, увеличение доли пациентов с наличием данного осложнения в анамнезе в группе с зафиксированной потерей HLA-гетерозиготности указывает на возможное использование

этого механизма бластными клетками в случае повышенного иммунного давления и побуждает на дальнейшее исследование этого вопроса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение ИДЛ с профилактической целью у детей с ОМЛ и ОЛЛ показывает свою эффективность в предотвращении возникновения костномозговых рецидивов после алло-ТГСК. Развитие оРТПХ обладает потенцирующим эффектом, приводя к усилению иммуноадаптивной активности донорских лимфоцитов. Экстрамедуллярные рецидивы остаются серьезной угрозой, требующей разработки новых подходов к терапии и профилактике их возникновения.

Тяжесть и характер ИДЛ-индуцированной оРТПХ в детской возрастной группе значимо не отличаются от классической формы данного осложнения, развивающейся в ранние сроки после трансплантации. Преобладание форм легкой и средней степени тяжести, а также современные подходы к терапии данного состояния позволяют получить преимущество в показателях ОВ за счет снижения рисков возникновения рецидива без выраженного снижения качества жизни.

Таким образом, на данный момент основными целями для дальнейших исследований являются определение клинических и биологических характеристик, позволяющих определить баланс между потенциальной пользой от усиления иммунного адаптивного эффекта и риском возникновения тяжелых осложнений.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда №22-15-00491 (<https://rscf.ru/project/22-15-00491/>).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Levkovsky N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1003-774X>
Tsvetkova L.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4952-0704>
Paina O.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7263-4326>
Evdokimov A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3809-421X>
Barkhatov I.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8000-3652>
Epifanovskaya O.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8168-6811>
Babenko E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3367-4936>
Ivanova N.E. ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-5455-860X>
Rakhmanova Zh.Z. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3386-0942>
Kozhokar P.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5721-0207>
Osipova A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7629-4293>
Gindina T.L. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1302-3311>
Semenova E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5077-9225>
Kulagin A.D. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9589-4136>
Zubarovskaya L.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2594-7703>

Литература / References

1. Passweg J.R., Baldomero H., Chabannon C., Basak G.W., de la Cámara R., Corbacioglu S., et al. Hematopoietic cell transplantation and cellular therapy survey of the EBMT: monitoring of activities and trends over 30 years. *Bone Marrow Transplant* 2021; 56: 1651–64.
2. Zubarovskaya L.S., Moiseev I.S., Vladovskaya M.D., Mikhailova N.B., Morozova E.V., Bykova T.A., et al. Trends in Outcome of Hematopoietic Stem Cell Transplantation: 5000 Transplantations and 30 Years of Single-Center Experience. *Cancers (Basel)* 2023; 15 (19): 4758.
3. Leung W., Pui C.H., Coustan-Smith E., Yang J., Pei D., Gan K., et al. Detectable minimal residual disease before hematopoietic cell transplantation is prognostic but does not preclude cure for children with very-high-risk leukemia. *Blood* 2012; 120 (2): 468–72.
4. Schmid C., Labopin M., Nagler A., Niederwieser D., Castagna L., Tabrizi R., et al.; Acute Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Treatment, risk factors, and outcome of adults with relapsed AML after reduced intensity conditioning for allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2012; 119 (6): 1599–606.
5. Spyridonidis A., Labopin M., Schmid C., Volin L., Yakoub-Agha I., Stadler M., et al.; Immunotherapy Subcommittee of Acute Leukemia Working Party. Outcomes and prognostic factors of adults with acute lymphoblastic leukemia who relapse after allogeneic hematopoietic cell transplantation. An analysis on behalf of the Acute Leukemia Working Party of EBMT. *Leukemia* 2012; 26 (6): 1211–7.
6. Barnes D.W., Corp M.J., Loutit J.F., Neal F.E. Treatment of murine leukaemia with X rays and homologous bone marrow; preliminary communication. *Br Med J* 1956; 2: 626–7.
7. Jenq R.R., van den Brink M.R. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: individualized stem cell and immune therapy of cancer. *Nat Rev Cancer* 2010; 10 (3): 213–21. DOI: 10.1038/nrc2804. Erratum in: *Nat Rev Cancer* 2010; 10 (3). DOI: 10.1038/nrc2825
8. Kolb H.J., Mittermüller J., Clemm C., Holler E., Ledderose G., Brehm G., et al. Donor leukocyte transfusions for treatment of recurrent chronic myelogenous leukemia in marrow transplant patients. *Blood* 1990; 76 (12): 2462–5.
9. Pagliuca S., Schmid C., Santoro N., Simonetta F., Battipaglia G., Guillaume T., et al.; Practice Harmonization and Guidelines Committee and the Cellular Therapy and Immunobiology Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Donor lymphocyte infusion after allogeneic haematopoietic cell transplantation for haematological malignancies: basic considerations and best practice recommendations from the EBMT. *Lancet Haematol* 2024; 11 (6): e448–58.
10. Schmid C., Labopin M., Schaap N., Veelken H., Schleuning M., Stadler M., et al.; EBMT Acute Leukaemia Working Party. Prophylactic donor lymphocyte infusion after allogeneic stem cell transplantation in acute leukaemia - a matched pair analysis by the Acute Leukaemia Working Party of EBMT. *Br J Haematol* 2019; 184 (5): 782–7.
11. Kothari S., Artz A.S., Lee S.M., Fulton N., Park J.H., Stock W., et al. Dose escalation prophylactic donor lymphocyte infusion after T-cell depleted matched related donor allogeneic hematopoietic cell transplantation is feasible and results in higher donor chimerism, faster immune re-constitution, and prolonged progression-free survival. *Bone Marrow Transplant* 2020; 55 (6): 1161–8.
12. Radujkovic A., Guglielmi C., Bergantini S., Iacobelli S., van Biezen A., Milojkovic D., et al.; Chronic Malignancies Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. Donor Lymphocyte Infusions for Chronic Myeloid Leukemia Relapsing after Allogeneic Stem Cell Transplantation: May We Predict Graft-versus-Leukemia Without Graft-versus-Host Disease? *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21 (7): 1230–6.
13. Krishnamurthy P., Potter V.T., Barber L.D., Kulasekararaj A.G., Lim Z.Y., Pearce R.M., et al. Outcome of donor lymphocyte infusion after T cell-depleted allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013; 19: 562–8.
14. Jedlickova Z., Schmid C., Koenecke C., Hertenstein B., Baurmann H., Schwerdtfeger R., et al. Long-term results of adjuvant donor lymphocyte transfusion in AML after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51 (5): 663–7.
15. Santoro N., Mooyaart J.E., Devillier R., Koc Y., Vydra J., Castagna L., et al. Donor lymphocyte infusions after haploidentical stem cell transplantation with PTCT: A study on behalf of the EBMT cellular therapy & immunobiology working party. *Bone Marrow Transplant* 2023; 58 (1): 54–60.
16. Qi S.S., Chen Z., Du Y., Sun M., Wang Z., Long F., et al. Prophylactic donor lymphocyte infusion after haploidentical hematopoietic cell transplantation and post-transplant cyclophosphamide for treatment of high-risk myeloid neoplasms in children: A retrospective study. *Pediatric Blood Cancer* 2023; 70 (11): e30659.
17. Carlens S., Remberger M., Aschan J., Ringdén O. The role of disease stage in the response to donor lymphocyte infusions as treatment

- for leukemic relapse. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001; 7 (1): 31–8.
18. Цветкова Л.А., Евдокимов А.В., Бархатов И.М., Паина О.В., Епифановская О.С., Бабенко Е.В. и др. Прогностическое значение потери гетерозиготности HLA после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при развитии рецидива острого лейкоза у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2023; 22 (2): 44–53. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-2-44-53 [Tsvetkova L.A., Evdokimov A.V., Barkhatov I.M., Paina O.V., Epifanovskaya O.S., Babenko E.V., et al. The prognostic value of HLA loss of heterozygosity after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with relapsed acute leukemia. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2023; 22 (2): 44–53. (In Russ.)].
 19. Przepiorka D., Weisdorf D., Martin P., Klingemann H.G., Beatty P., Hows J., et al. 1994 Consensus conference on acute GVHD grading. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15: 825–8.
 20. Filipovich A.H., Weisdorf D., Pavletic S., Socie G., Wingard J.R., Lee S.J., et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11: 945–56.
 21. Schmid C., Kuball J., Bug G. Defining the Role of Donor Lymphocyte Infusion in High-Risk Hematologic Malignancies. *J Clin Oncol* 2021; 39 (5): 397–418.
 22. Eefting M., Halkes C.J., de Wreede L.C., van Pelt C.M., Kersting S., Marijt E.W., et al. Myeloablative T cell-depleted alloSCT with early sequential prophylactic donor lymphocyte infusion is an efficient and safe post-remission treatment for adult ALL. *Bone Marrow Transplant* 2014; 49 (2): 287–91.
 23. Tsirigotis P., Gkirkas K., Kitsiou V., Chondropoulos S., Athanassiadis T., Thomopoulos T., et al. Repetively Administered Low-Dose Donor Lymphocyte Infusion for Prevention of Relapse after Allogeneic Stem Cell Transplantation in Patients with High-Risk Acute Leukemia. *Cancers (Basel)* 2021; 13 (11): 2699.
 24. Mathé G., Amiel J.L., Schwarzenberg L., Cattani A., Schneider M. Adoptive immunotherapy of acute leukemia: Experimental and clinical results. *Cancer Res* 1965; 25 (9): 1525–31.
 25. Weiden P.L., Sullivan K.M., Flournoy N., Storb R., Thomas E.D.; The Seattle Marrow Transplant Team. Antileukemic effect of chronic graft-versus-host disease. Contribution to improved survival after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med* 1981; 304 (25): 1529–33.
 26. Scarisbrick J.J., Dignan F.L., Tulpule S., Gupta E.D., Kolade S., Shaw B., et al. A multicentre UK study of GVHD following DLI: rates of GVHD are high but mortality from GVHD is infrequent. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50 (1): 62–7.
 27. Rubinstein J.D., Krupski C., Nelson A.S., O'Brien M.M., Davies S.M., Phillips C.L. Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy in Patients with Multiply Relapsed or Refractory Extramedullary Leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2020; 26 (11): e280–5.
 28. Chalandon Y., Passweg J.R., Schmid C., Olavarria E., Dazzi F., Simula M.P., et al.; Chronic Leukemia Working Party of European Group for Blood and Marrow Transplantation. Outcome of patients developing GVHD after DLI given to treat CML relapse: a study by the Chronic Leukemia Working Party of the EBMT. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45 (3): 558–64.
 29. Jamy O., Zeiser R., Chen Y.B. Novel developments in the prophylaxis and treatment of acute GVHD. *Blood* 2023; 142 (12): 1037–46.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-107-111

Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin in children with β -thalassemia major as a promising marker for predicting renal tubular impairment

Fahima M. Hassan¹, Amira M.F. Shehata², Asmaa A. Mahmoud¹, Ahmed Abo Elmakarm³, Doaa M. Elian¹¹Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Menoufia University, Shebin El Kom, Egypt²Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine, Menoufia University, Shebin El Kom, Egypt³Ministry of Health and Population, Egypt

To assess the usefulness of serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in children with β -thalassemia major as an early indicator of kidney damage. A case-control study was conducted on 140 children. Two main groups were identified: 70 patients with transfusion-dependent beta thalassemia major and 70 age- and gender-matched healthy controls. All the participants were evaluated for medical history and underwent a thorough physical examination, clinical assessments, and laboratory tests for complete blood count, serum ferritin, renal function, and serum NGAL. A significant increase in serum NGAL levels was observed in the patients compared to the controls ($p = 0.001$). Moreover, NGAL showed a positive correlation with serum urea ($r = 0.257$; $p < 0.001$), creatinine ($r = 0.389$; $p < 0.001$), and ferritin levels ($r = 0.635$; $p < 0.001$), and a negative correlation with hemoglobin level ($r = -0.608$; $p < 0.001$), MCV ($r = -0.0480$; $p < 0.001$), MCH ($r = -0.433$; $p < 0.001$), and eGFR ($r = -0.346$; $p < 0.001$). NGAL had an AUC of 0.914, a cut-off value of 1370 ng/mL, 86.7% sensitivity, and 90% specificity. The Ethical Committee of the Faculty of Medicine, Menoufia University, reviewed the study protocol and gave approval (No. 191219 PEDI 28). Written informed parental consent was obtained in all cases. Renal dysfunction in thalassemia can start as a hidden damage with no apparent symptoms or complaints. Hence, NGAL may serve as an early indicator of renal tubular and glomerular dysfunction in patients with beta-thalassemia.

Key words: beta thalassemia major, iron overload, neutrophil gelatinase-associated lipocalin, renal dysfunction

Fahima M. Hassan, et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 107–111.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-107-111

Beta thalassemia major (β -TM) belongs to a diverse group of hereditary hemoglobin (Hb) disorders characterized by abnormal production of beta globin chains of Hb resulting in an excess of α -globin chains. The premature breakdown of red blood cells in the bone marrow and spleen leads to faster red blood cell replacement, inefficient production of red blood cells, and severe anemia [1].

Improved survival rates in patients with thalassemia major are attributed to the use of effective iron chelators and new imaging techniques that can detect excessive iron in the body. However, an increase in the survival rates of thalassemia patients has brought up the problem of numerous organ failures [2].

Many factors can be involved in kidney damage in children with thalassemia. Long-term lack of oxygen, anemia, frequent blood transfusions, continuous hemolysis, excessive iron from blood transfusions, and potential kidney damage from iron-removal medications can all contribute to a decline in renal function [3].

Diagnosing advanced kidney damage with standard biomarkers (serum creatinine, creatinine clearance, or serum urea) may be inaccurate due to various factors

that may influence creatinine and urea concentrations such as age, gender, muscle mass, protein intake, inflammation, and the presence of liver disease [4].

One of the most promising indicators of initial renal damage is neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), a 25-kDa iron-carrying protein secreted by activated neutrophils and expressed in epithelial cells. It is significantly elevated in kidney injury. After renal injury caused by toxins or lack of blood supply, the levels of NGAL significantly rise in kidney cortical tubules, blood, and urine. NGAL could potentially have predictive value in determining both immediate kidney damage and a long-term decline in kidney function in patients with chronic kidney disease. This research sought to confirm serum NGAL as an early predictor of kidney damage in children with β -thalassemia.

MATERIALS AND METHODS

In this case-control study, 70 patients with β -TM were recruited along with 70 age- and gender-matched healthy controls. The cases visited hematology outpatient clinic at the Pediatric Department of Menoufia University to receive regular blood transfusions.

© by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 14.10.2024

Accepted 15.11.2024



EDN: LZDZVO

Correspondence:

Asmaa Abdel Sameea Mahmoud,
Department of Pediatrics, Faculty of
Medicine, Menoufia University
Address: 5321, Egypt
E-mail: asmaasoliman50@gmail.com

The Ethical Committee of the Faculty of Medicine, Menoufia University, reviewed the study protocol and gave approval (No. 191219 PEDI 28). Written informed parental consent was obtained in all cases.

The results of medical assessments and laboratory tests for CBC, ferritin levels, kidney function, and NGAL levels were documented for every subject.

The estimated glomerular filtration rate (eGFR) was calculated using the Schwartz equation [6]. Creatinine clearance ($\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$) = $\kappa \times \text{height (cm)}/\text{serum creatinine (mg/dL)}$.

The study included children with transfusion-dependent β -TM who met specific requirements at the time of first diagnosis (age less than 2 years, Hb levels between 6–7g/dL, HbF > 50%, and HbA2 < 3%).

Patients with various hemoglobinopathies or hemolytic anemia, systemic illnesses like heart failure, hepatic diseases, or diabetes mellitus, and those exhibiting clinical or laboratory signs of other renal diseases were excluded from the study.

Analytical methods

Venous blood samples were collected from the cases (prior to blood transfusion) and controls in sterile conditions. The following laboratory tests were performed: complete blood count (analyzed using the Sysmex XN-10 Automated Hematology Analyzer, Sysmex, Kobe, Japan); kidney function tests (analyzed using the AU680 chemistry analyzer, Beckman Coulter Inc., Brea, California, USA); and serum ferritin levels (measured using the mini VIDAS Automated Immunoassay Analyzer (Biomérieux, Marcy-l'Étoile, France).

In addition, serum samples for NGAL assays were isolated after centrifugation at 3000 rpm for 10 min and kept frozen at -20°C until analysis. Serum NGAL levels were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Shanghai Sun Red Biological Technology Co., Ltd, Shanghai, China, Catalog No. 201-12-1720) according to the manufacturer's instructions.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using Statistical Package for the Social Sciences software (SPSS version 25; SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). Numerical data was presented as means with standard deviations, and ranges, as needed. Numbers and percentages were used to display categorical data. The Student's independent t-test was used to compare two groups of quantitative variables. Pearson's correlation coefficients were computed to evaluate the degree of correlation between normally distributed numerical measurements. The ROC curve was used to find the best cut-off point, sensitivity, specificity, and area under the curve. *p*-values lower than 0.05 were considered significant.

RESULTS

The demographic data and clinical information of the subjects is presented in *table 1*.

There were significant differences in the levels of Hb, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular Hb (MCH), red cell distribution width (RDW), serum creatinine and urea levels, eGFR, and serum NGAL concentrations between the two groups ($p = 0.001$) (*table 2*).

NGAL levels showed a positive correlation with creatinine ($r = 0.389$; $p < 0.001$), urea ($r = 0.257$; $p < 0.001$), and ferritin ($r = 0.635$; $p < 0.001$), and a negative correlation with Hb ($r = -0.608$; $p < 0.001$) and eGFR ($r = -0.346$; $p < 0.001$), according to correlation analysis findings provided in *table 3*.

The utility of serum NGAL in children with β -TM as an early predictor of kidney damage was evaluated using the ROC analysis. The AUC for NGAL was 0.914, with a cutoff value set at 1370 ng/mL, showing 86.7% sensitivity, 90% specificity, and a 95% CI of 0.908–0.968 (*table 4, figure 1*).

DISCUSSION

Kidney iron overload associated with frequent blood transfusions in beta thalassemia patients causes damage to kidney components, leading to atrophy of tubules, scarring of glomeruli, and kidney interstitial fibrosis [7].

Regarding the hematological parameters, our patients with β -TM had lower levels of Hb, MCV, and MCH than the controls. Origa [8] demonstrated that children with thalassemia major exhibit low levels of Hb, MCV, and MCH. Moreover, Vehapoglu et al. [9] found that the average Hb level was 10.39 ± 0.69 , and the average MCV and MCH levels were 60.11 ± 3.49 and 18.9 ± 1.37 , respectively. This aligns with Ali et al. [10], who reported abnormal Hb levels and anemia due to excessive red blood cell destruction.

We observed elevated levels of serum urea in the group of cases compared to the control group, but these values still fell within the range of normal values. Our results are in line with the study by Mahmoud et al. [11], where a marked rise in serum urea levels was observed in β -TM patients. In the Egyptian study by Shfik et al. [12], it was found that the average urea level in 45 patients was 26.6 ± 8.5 , showing a significant statistical variance compared to the control group. In addition, Hamed et al. [13] demonstrated that chronic lack of oxygen, severe anemia, frequent blood transfusions, hemolysis, excessive iron from blood transfusions, and potential kidney damage from iron

chelators are known factors contributing to a decline in renal function.

As regards serum creatinine, in the studies by Naderi et al. [14] and Mohkam et al. [15] children with β -TM had higher creatinine levels than controls. On the other hand, Thongsaeen et al. [16] discovered that β -TM patients had typical serum creatinine levels and did not show any significant association in the patient group when compared to the control group.

Table 1
Demographic data and anthropometric measurements of the study subjects

Variables	Patient group (n = 70)	Control Group (n = 70)	p-value
Age, year: mean \pm SD range	8.18 \pm 3.49 1–14	8.53 \pm 3.43 2–14	0.697
Gender, n (%): male female	39 (55.7) 31 (44.3)	45 (64.3) 25 (35.7)	0.584
Weight, kg: mean \pm SD range	19.46 \pm 7.49 11–35	36.3 \pm 14.66 15–65	0.001*
Height, cm: mean \pm SD range	114.16 \pm 20.17 60–145	136.06 \pm 22.51 88–170	0.001*
BMI, kg/cm ² : mean \pm SD range	14.81 \pm 1.38 12.50–19.44	17.47 \pm 3.81 15.90–23.50	0.001*

Note. BMI – body mass index.

Table 2
A comparison of the laboratory test results of the study subjects

Variables	Patient group (n = 70), mean \pm SD	Control Group (n = 70), mean \pm SD	p-value
Hb, g/dL	7.58 \pm 1.17	13.09 \pm 1.02	0.001*
MCV, fL	71.78 \pm 4.49	81.84 \pm 1.02	0.001*
MCH, pg	23.21 \pm 3.21	29.08 \pm 0.64	0.001*
RDW, %	15.28 \pm 1.36	13.0 \pm 0.92	0.001*
Serum Creatinine, mg/dL	0.83 \pm 0.13	0.45 \pm 0.23	0.001*
Serum Urea, mg/dL	28.26 \pm 6.45	23.3 \pm 3.28	0.001**
eGFR, mL/min	107.73 \pm 13.09	123.66 \pm 10.47	0.001**
Serum ferritin, ng/mL	2119.93 \pm 208.28	102.86 \pm 48.09	0.001**
Serum NGAL, ng/mL	1864.2 \pm 549.51	1202.86 \pm 165.18	0.001**

Table 3
A correlation between serum NGAL and laboratory parameters in the patient group

Variables	Serum NGAL	
	r	p-value
Hb, m/dL	-0.608	< 0.001**
MCV, fL	-0.480	< 0.001**
MCH, pg	-0.433	< 0.001**
RDW, %	0.422	< 0.001**
Serum Ferritin, ng/mL	0.635	< 0.001**
Serum Creatinine, mg/dL	0.389	< 0.001**
Serum Urea, mg/dL	0.257	< 0.001**
eGFR, mL/min	-0.346	< 0.001**

In our study, there was a noticeable decline in the average eGFR values in the group of patients. Milo et al. [17] discovered that individuals with thalassemia had lower GFR and suggested to use more precise methods for early identification and prevention of further GFR decline. In addition, Shoeib et al. [18] reported impaired glomerular function in 50 individuals with β -TM, with 41.9% of them having decreased GFR. Naderi et al. [14] demonstrated that children with β -TM had lower eGFR levels than healthy controls. This is in agreement with Ponticelli et al.'s [19] explanation that anemia, iron overload, and treatment with specific iron chelators can lead to kidney damage and reduced eGFR levels.

In our study, individuals with β -TM had elevated levels of serum ferritin as was shown by Ayulinda et al. [20].

The level of serum NGAL was found to be higher in the cases than in the controls, as in our study, as reported by Roudkenar et al. [21] Patsaoura et al. [22] suggest that there are numerous factors that can contribute to increased NGAL levels in thalassemia patients, such as anemia/hypoxia, kidney injury, and disruptions in iron homeostasis. Additionally, El-shall et al. [23] found that levels of serum NGAL were higher in β -thalassemia patients when compared to controls. Similarly, Fouad et al. [24] suggests that urinary NGAL excretion is associated with proximal tubular injury, which can lead to a disruption in NGAL reabsorption or an increase in NGAL synthesis.

The present research demonstrated a positive correlation between NGAL and serum levels of urea, creatinine, ferritin, RDW, and platelet counts. Conversely, a negative correlation was found between NGAL and Hb level, MCV, MCH, and eGFR. In the event of no apparent kidney disease, our findings suggest that NGAL levels are able to predict a hidden kidney damage.

Our results support the findings of El-shall et al. [23] as regards a positive correlation between serum NGAL and serum urea, creatinine, and ferritin

Figure
ROC curve of serum NGAL in the children with β -TM

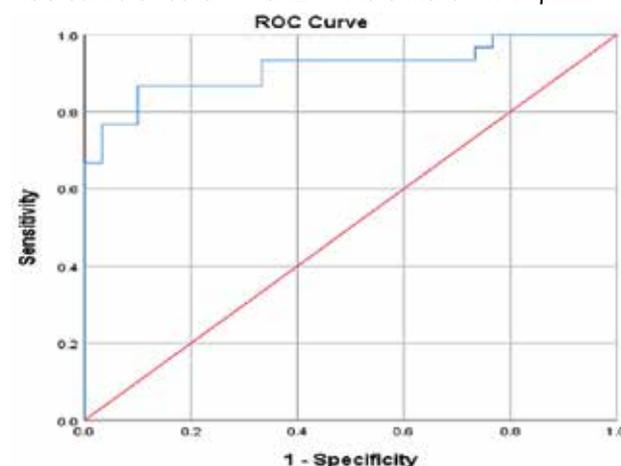


Table 4

Receiver operating characteristic (ROC) curve of serum NGAL in the children with β -TM

Parameter	AUC	p-value (95% CI)	Cutoff value	Sensitivity, %	Specificity, %	PPV, %	NPV, %
Serum NGAL, ng/mL	0.914	< 0.001 (0.838–991)	1370	86.6	90	89.6	87.1

Note. CI – confidence interval; PPV – positive predictive value; NPV – negative predictive value.

levels; and a negative correlation between NGAL and Hb levels. Furthermore, Bolignano et al. [25] demonstrated a strong positive correlation between NGAL and hematocrit, MCV, MCH, serum iron, and ferritin.

Our research showed that NGAL had an AUC of 0.914 at a cut-off of 1370 ng/L, 86.7% sensitivity, and 90% specificity, with a 95% confidence interval of 0.838–0.991. El-shall et al. [23] demonstrated an AUC of 0.976 for NGAL, with 88% sensitivity, 91% specificity, and a 95% CI of 0.908–0.968.

Our findings support the results of the study by Romejko et al. [26], where NGAL is primarily recognized as a biomarker for acute kidney injury which is released after tubular damage and during renal regeneration processes. In their study, NGAL levels were also increased in individuals with chronic kidney disease and those undergoing dialysis. It could serve as an indicator

of a decline in renal function along with complications and death caused by kidney failure.

CONCLUSION

Renal dysfunction in thalassemia can start as a hidden damage with no apparent symptoms or complaints. Hence, NGAL may serve as an early indicator of renal tubular and glomerular dysfunction in children with beta-thalassemia.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the participants of the study and acknowledge the support of the data collection team.

FUNDING

No funding.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

References

- Jameel T., Baig M., Ahmed I., Hussain M., Alkhamaly M. Differentiation of beta thalassemia trait from iron deficiency anemia by hematological indices. *Pak J Med Sci* 2017; 33 (3): 665–9.
- Marktel S., Scaramuzza S., Cicalese M.P., Giglio F., Galimberti S., Lidonnici M.R., et al. Intrabone hematopoietic stem cell gene therapy for adult and pediatric patients affected by transfusion-dependent β -thalassemia. *Nat Med* 2019; 25 (2): 234–41.
- Al-Hakeim H.K., Najm A.H., Al-Dujaili A.H., Maes M. Major Depression in Children with Transfusion-Dependent Thalassemia Is Strongly Associated with the Combined Effects of Blood Transfusion Rate, Iron Overload, and Increased Pro-inflammatory Cytokines. *Neurotox Res* 2020; 38 (1): 228–41.
- Mousa N., Nahab H.M. Serological detection and hematological changes associated with Toxoplasmosis in thalassemia patients in Al-Samawah province. *Int J Pharmaceutical Res* 2020; 12 (4): 872–6.
- Cappellini M.D., Quebe-Fehling E., Pallaud C., Dieterle F., Porter J.B. Exploring the clinical utility of renal safety biomarkers during iron chelation therapy in patients with β -thalassemia and other anemia. *Blood* 2017; 130: 4762.
- Schwartz G.J., Muñoz A., Schneider M.F., Mak R.H., Kaskel F., Warady B.A., Furth S.L. New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20 (3): 629–37.
- Zhou X.J., Laszik Z., Wang X.Q., Silva F.G., Vaziri N.D. Association of renal injury with increased oxygen free radical activity and altered nitric oxide metabolism in chronic experimental hemosiderosis. *Lab Invest* 2000; 80 (12): 1905–14.
- Origa R. β -Thalassemia. *Genet Med* 2017; 19: 609–19.
- Vehapoglu A., Ozgurhan G., Demir A.D., Uzuner S., Nursoy M.A., Turkmen S., et al. Hematological indices for differential diagnosis of Beta-thalassemia trait and iron deficiency anemia. *Anemia* 2014; 2014: 576738.
- Ali D., Mehran K., Moghaddam A.G. Comparative evaluation of renal findings in Beta-thalassemia major and intermedia. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2008; 19 (2): 206–9.
- Mahmoud A.A., Elian D.M., Abd E.I. Hady N.M., Abdallah H.M., Abdelsattar S., Khalil F.O., et al. Assessment of Subclinical Renal Glomerular and Tubular Dysfunction in Children with Beta Thalassemia Major. *Children (Basel)* 2021; 8 (2): 100. DOI: 10.3390/children8020100
- Shfik M., Sherada H., Shaker Y., Afify M., Sobeh H.A., Moustafa S. Serum levels of cytokines in poly-transfused patients with beta-thalassemia major: relationship to splenectomy. *J Am Sci* 2011; 7 (1): 973–9.
- Hamed E.A., ElMelegy N.T. Renal functions in pediatric patients with

- beta-thalassemia major: relation to chelation therapy: original prospective study. *Ital J Pediatr* 2010; 36: 39.
14. Naderi M., Sadeghi-Bojd S., Valeshabad A.K., Jahantigh A., Alizadeh S., Dorgalaleh A., et al. A prospective study of tubular dysfunction in pediatric patients with Beta thalassemia major receiving deferasirox. *Pediatr Hematol Oncol* 2013; 30 (8): 748–54.
 15. Mohkam M., Shamsian B.S., Gharib A., Nariman S., Arzani M.T. Early markers of renal dysfunction in patients with beta-thalassemia major. *Pediatr Nephrol* 2008; 23 (6): 971–6.
 16. Thongsae P., Tonsawan P., Wanitpongpun C., Lanamtieng T., Phiphitaporn P., Teawtrakul N. Clinical features and risk factors of renal dysfunctions in thalassemic patients. *Int Urol Nephrol* 2023; 55 (7): 1779–85. DOI: 10.1007/s11255-023-03506-3
 17. Milo G., Nevo R., Pazgal I., Gafter-Gvili A., Shpilberg O., Gafter U., et al. GFR in Patients with β -Thalassemia Major. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10 (8): 1350–6. Doi: 10.2215/CJN.12181214
 18. Shoeib S.A., Abd El Hafez M.A., Abd El Hamid A.E., Khodair S.A., Amer H.G., Abd Elmohsen E.A., Elkholy H.Y. Glomerular Dysfunction in Adult Patients with β -Thalassemia Major. *Blood Res Transfus J* 2017; 1 (3): 1–7.
 19. Ponticelli C., Musallam K.M., Cianciulli P., Cappellini M.D. Renal complications in transfusion-dependent beta thalassaemia. *Blood Rev* 2010; 24 (6): 239–44.
 20. Ayulinda C.N.F., Yusuf S., Herdata H.N., Haris S. Correlation of Increased Serum Ferritin with SGOT, SGPT, and Albumin Levels in Children with β -Thalassemia Major. *Arch Pediatr Gastr Hepatol Nutr [Internet]*. 2022; 1 (3). DOI: 10.58427/apghn.1.3.2022
 21. Roudkenar M.H., Halabian R., Oodi A., Roushandeh A.M., Yaghmai P., Najari M.R., et al. Upregulation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL/Lcn2, in beta-thalassemia patients. *Arch Med Res* 2008; 39 (4): 402–7.
 22. Patsaoura A., Tatsi E., Margeli A., Kanavaki I., Delaporta P., Kyriakopoulou D., et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels are markedly increased in patients with non-transfusion-dependent thalassemia: Lack of association with markers of erythropoiesis, iron metabolism and renal function. *Clin Biochem* 2014; 47 (12): 1060–4.
 23. El-Shall N.D., El-Bendary A.S., Okda H.I., El-Ashry K.A. Serum Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin as a Biomarker for Early Renal Dysfunction in Adult Egyptian Patients with beta-Thalassemia Major. *Med J Cairo University* 2018; 86: 2811–4.
 24. Fouad I.Z., ElNahid M.S., Youssef M.F., Amroussy Y.M. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of kidney injury in Egyptian patients with thalassemia. *Egypt J Intern Med* 2019; 31: 343–52.
 25. Bolognani D., Coppolino G., Donato V., Lacquaniti A., Bono C., Buemi M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a new piece of the anemia puzzle? *Med Sci Monit* 2010; 16 (6): RA131–5.
 26. Romejko K., Markowska M., Niemczyk S. The Review of Current Knowledge on Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL). *Int J Mol Sci* 2023; 24: 10470. DOI: 10.3390/ijms241310470

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 22.11.2024
Принята к печати 29.11.2024



EDN: MHWDGE

Контактная информация:

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

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-112-118

Пятилетний опыт удаленной диагностики болезни Виллебранда в России

А.В. Поletaев¹, П.А. Жарков¹, Е.А. Серёгина^{1,2}, М.В. Дубинина³

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

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

³Общероссийская благотворительная общественная организация инвалидов «Всероссийское общество гемофилии», Москва

Качественная своевременная лабораторная диагностика является залогом успеха при уточнении причин геморрагических проявлений у детей и взрослых. Однако ввиду редкости и разнообразия конкретных патологий полный спектр лабораторных исследований может быть недоступен в отдельном регионе или лечебном учреждении. Учитывая эти ограничения, в 2019 г. стартовала программа удаленной диагностики болезни Виллебранда (БВ). Целью настоящего исследования являлась оценка результатов данной программы. В соответствии с протоколом исследования образцы периферической крови пациентов с подозрением на БВ отбирались на местах и далее после первичной пробоподготовки направлялись для анализа в лабораторию клинического гемостаза НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Данное исследование не требовало одобрения этическим комитетом, так как в нем использовались обобщенные ретроспективные деперсонифицированные данные, полученные в ходе рутинной клинической практики. Коагулологический анализ образцов включал определение концентрации антигена фактора фон Виллебранда (vWF:Ag), ристоцетин-кофакторной активности vWF (vWF:RCo), а также активности фактора свертывания крови VIII (FVIII). Всего с 04.11.2019 по 31.12.2023 было получено 512 замороженных образцов от 375 детей в возрасте до 18 лет (средний возраст 10 лет (1 месяц – 17 лет) и 139 взрослых пациентов (средний возраст 35 (18–72) лет) из 21 региона Российской Федерации. Ошибки преаналитического этапа были обнаружены в 42 (8,2%) пробах. Снижение активности vWF < 50% отмечено у 125 (26,6%) пациентов. Активность vWF < 30% выявлена у 52 (11,1%) пациентов, а vWF:RCo < 50% и > 30% – у 73 (15,5%). Лабораторная картина соответствовала 1-му типу БВ у 68 (54,4%) пациентов, 2-му типу – у 50 (40%) и 3-му типу – у 7 (5,6%). Снижение отношения активности FVIII к vWF:Ag выявлено у 30 (6,4%) пациентов. У 1 женщины с низким уровнем FVIII был установлен 2N тип БВ (активность связывания FVIII с vWF – 2% (нормальные значения 70–130%)). Внедрение данной программы позволило уточнить диагноз у 125 пациентов без их очного присутствия вне зависимости от места жительства, что расширяет возможности выявления БВ у пациентов, проживающих в регионах с ограниченным диагностическим потенциалом.

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

Поletaev A.V. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 112–8. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-112-118

Five-year experience in remote diagnosis of von Willebrand disease in Russia

A.V. Poletaev¹, P.A. Zharkov¹, E.A. Seregina^{1,2}, M.V. Dubinina³

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

²Center for Theoretical Problems of Physical and Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow

³The Russian Hemophilia Society Public Charity for the Disabled, Moscow

Accurate and timely laboratory diagnosis plays a key role in specifying the causes of hemorrhagic events both in children and adults. However, due to the rarity and diversity of some bleeding disorders, a full spectrum of laboratory testing may not be available in certain regions or hospitals. Taking into account these limitations, a programme of remote diagnosis of von Willebrand disease (VWD) was initiated in 2019. The aim of our study was to assess the results of the programme. In accordance with the study protocol, peripheral blood samples from patients suspected of VWD were collected at local healthcare facilities and, after initial sample preparation, were transferred to the Laboratory of Clinical Hemostasis of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology. Ethical approval was not required since the study only involved the use of anonymized and generalized retrospective data obtained during routine clinical practice. Coagulation analysis included tests for von Willebrand factor antigen (vWF:Ag), von Willebrand factor ristocetin cofactor activity (vWF:RCo), and factor VIII (FVIII) clotting activity. From 04 November 2019 to 31 December 2023, we received a total of 512 frozen samples from 375 children aged under 18 years (the mean age was 10 years (1 month – 17 years)) and 139 adult patients (the mean age was 35 (18–72) years) from 21 regions of the Russian Federation. Pre-analytical errors were identified in 42 (8.2%) cases. Decreased vWF activity (< 50%) was found in 125 (26.6%) patients. VWF activity < 30% was registered in 52 (11.1%) patients, while vWF:RCo < 50% and > 30% – in 73 (15.5%) cases. In 68 (54.4%) patients, laboratory findings were consistent with vWD type 1, in 50 (40%) cases testing results were indicative of vWD type 2, and 7 (5.6%) patients had vWD type 3. Thirty (6.4%) patients had decreased FVIII/vWF:Ag ratio. Type 2N VWD was found in one woman with low FVIII activity (the FVIII binding activity of VWF was 2%, normal range: 70–130%). The implementation of this programme has allowed us to specify a diagnosis in 125 patients without their in-person presence and regardless of their place of residence. This expands our possibilities of detecting VWD in patients living in regions with limited diagnostic capacity.

Key words: von Willebrand disease, children, bleeding, diagnosis, hemorrhage syndrome

Poletaev A.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 112–8. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-112-118

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 22.11.2024

Accepted 29.11.2024

Correspondence:

Alexander V. Poletaev,

Head of the Laboratory of Clinical Hemostasis 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., Moscow 117997, Russia
E-mail: poletaev_alexandr@mail.ru

Блезнь Виллебранда (БВ) является наследственной геморрагической коагулопатией, связанной с количественными или качественными изменениями молекулы фактора фон Виллебранда (vWF) [1]. Частота встречаемости БВ в популяции варьирует от 0,6 до 1,3%, некоторые исследователи указывают распространенность до 2%, однако истинная распространенность БВ не установлена [2, 3]. Расхождения в распространенности связаны с большим количеством причин, и в первую очередь со сложностью и этапностью диагностики БВ, необходимостью проведения большого количества лабораторных исследований, часть из которых могут быть недоступны. Многие лаборатории используют в рутинной практике старые, нестандартизированные методики, достоверность результатов которых подвергается большим сомнениям [4]. Строгое соблюдение правил преаналитического этапа является обязательным условием для получения достоверных результатов, поскольку исследования свертывающей системы крови являются одними из наиболее чувствительных к условиям взятия, хранения и транспортировки образцов [5]. Известны факты колебания количества vWF в зависимости от состояния пациента: стресс, патологии эндокринной системы, менструальный цикл у женщин и др. [6–8]. Изучены данные о повышении концентрации vWF с возрастом, при сохранении и даже усилении клинических проявлений кровоточивости [9]. Ранняя выявляемость БВ крайне актуальна, поскольку заболевание может протекать без выраженных проявлений в отсутствие провоцирующих факторов, появление которых приводит к развитию тяжелых жизнеугрожающих кровотечений. Ранняя постановка диагноза позволит своевременно проводить профилактические мероприятия по предупреждению осложнений. В 2019 г. Всероссийским обществом гемофилии была создана и запущена диагностическая программа, предусматривающая дистанционную диагностику БВ в регионах (Программа). Промежуточные результаты работы Программы были опубликованы ранее [10].

В данной статье мы подводим итоги работы Программы за 5 лет. Исследование не требовало одобрения этическим комитетом, так как в нем использовались обобщенные ретроспективные деперсонифицированные данные, полученные в ходе рутинной клинической практики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для включения пациентов в Программу использовался опросник, охватывающий оценку анамнестических данных проявлений кровоточивости, данных семейного анамнеза и наличия изменений в скрининговых лабораторных и коагулологических

исследованиях. При соответствии критериям включения врач-гематолог связывался по телефону горячей линии проекта с координатором Всероссийского общества гемофилии, пациент включался в Программу, после чего производились взятие образцов крови, первичная пробоподготовка и отправка биоматериала в лабораторию клинического гемостаза НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева для исследования. На лабораторном этапе количественно оценивались активность vWF, антиген vWF (vWF:Ag) и активность фактора свертывания крови VIII (FVIII), результаты исследований направлялись непосредственно лечащему врачу. При необходимости проводилась совместная консультация пациента с врачами-гематологами НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, в том числе в рамках телемедицины.

Для максимального исключения возможных преаналитических ошибок была разработана памятка по процедурам подготовки пациента к сдаче образцов крови, взятию образцов и их первичной пробоподготовке, основанная на международных рекомендациях Института лабораторной медицины [11]. Кровь набиралась в пробирки с 3,2% (0,105–0,110M) раствором цитрата натрия в соотношении 1:9. В течение не более 45 мин после взятия пробирки подвергались центрифугированию в режиме 3000 об/мин в течение 15 мин с дальнейшим отделением и переносом плазмы в чистые сухие промаркированные вторичные криопробирки. В дальнейшем образцы замораживались в морозильной камере при -20°C с последующим хранением не более 2 нед до передачи курьерской службе. Транспортировка осуществлялась в термоконтейнере с хладоэлементами при -20°C с обязательным контролем температурного режима. Доставленные образцы хранились в лаборатории не более 5 дней при температуре -70°C . Непосредственно перед проведением исследований образцы размораживались на водяной бане при 37°C с немедленным измерением показателей. Исследования выполнялись на автоматическом коагулометре ACL TOP 750 (Instrumentation laboratory, США) с использованием стандартных наборов: vWF:Ag (vWF:Ag, Instrumentation laboratory, США), ристоцетин-кофакторная активность vWF (vWF:RCo, Instrumentation laboratory, США) и активность FVIII (FVIII deficient plasma, Instrumentation laboratory, США).

Лабораторный диагноз БВ устанавливался при активности vWF < 50%. Первый тип БВ устанавливался на основании пропорционального снижения vWF:Ag и vWF:RCo < 50% в соответствии с клиническими рекомендациями с соотношением vWF:RCo/vWF:Ag > 0,7 [12, 13]. Второй тип подозревался при снижении отношения активности vWF к количеству < 0,7 (типы 2A, 2B и 2M) или снижении отношения FVIII к vWF:Ag < 0,7 (тип 2N) [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего за период с 04.11.2019 по 31.12.2023 в лабораторию клинического гемостаза НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева поступило 512 замороженных образцов плазмы пациентов с подозрением на БВ из 44 регионов Российской Федерации. География участников Программы представлена на *рисунке 1*.

Из поступивших на исследование образцов 375 были получены от детей в возрасте до 18 лет, средний возраст 10 лет (1 месяц – 17 лет) и 137 от взрослых, средний возраст 35 (18–72) лет.

Из поступивших в лабораторию образцов 42 (8,2%) имели различные нарушения преаналитического этапа и не были подвергнуты дальнейшему лабораторному анализу. Большая часть ошибок была допущена при взятии крови у детей до 18 лет – 25 (59,5%) образцов, 6 из которых набраны у детей до 5 лет. Наиболее частыми ошибками являлись наличие гемолиза – 17 (40,5%) образцов и сгустков в плазме – 15 (35,7%) образцов. Редкими ошибками были замороженная цельная кровь (3 образца), нарушение режима центрифугирования (3 образца), неверный выбор типа первичной пробирки (2 образца) и использование пробирок с активатором свертывания для биохимического исследования в качестве вторичных чистых сухих контейнеров (2 образца). Основные варианты преаналитических ошибок представлены на *рисунке 2*.

Преаналитические ошибки были выявлены в образцах из 11 (25%) регионов. Количество ошибок по регионам представлено в *таблице*.

Рисунок 1
Регионы-участники Программы

Figure 1
The regions participating in the program for distant diagnosis of von Willebrand disease (VWD) (Program)



До аналитического этапа было допущено 470 образцов. По результатам лабораторных исследований снижение активности vWF < 50% было выявлено у 125 пациентов (24,4% от всех направленных образцов, 26,6% образцов, подвергнутых лабораторному анализу), vWF:RCo < 30% – у 52 (11,1%), а vWF:RCo < 50%, но > 30% – у 73 (15,5%).

Среди группы взрослых пациентов с активностью vWF < 50% распределение по полу было следующим: 6 (23,1%) мужчин и 20 (76,9%) женщин. В группе детей – 46 (44,3%) мальчиков и 53 (55,7%) девочки.

Снижение vWF:Ag наблюдалось у 60 пациентов (11,7% всех направленных образцов, 12,8% образцов, подвергнутых лабораторному анализу). Концентрация vWF:Ag < 30% наблюдалась у 23 (4,9%) пациентов, в 37 (7,9%) случаях она составила < 50%, но > 30%. Нормальный уровень vWF:Ag наблюдался более чем у половины пациентов с активностью vWF < 50%.

Отношение активности vWF к антигену < 0,7 было установлено у 49 (39,2%) пациентов со снижением активности vWF < 50%.

Снижение отношения активности FVIII к vWF:Ag выявлено у 30 (6,4%) пациентов, из них 1 пациентке проведено исследование FVIII-связывающей способности vWF и подтвержден 2N тип БВ. У 4 пациентов снижение соотношения FVIII/vWF:Ag наблюдалось на фоне снижения активности и антигена vWF (*рисунок 3*).

Среди пациентов с БВ 1-му типу соответствовали 68 (54,4%) пациентов, 2-му типу – 50 (40%) и 3-му, наиболее тяжелому по клиническим проявлениям, типу – 7 (5,6%). Среди взрослых пациентов 1-й тип выявлен в 15 (57,7%) случаях, 2-й тип – в 11 (42,3%)

случаях с активностью vWF < 50%. Третий тип в группе взрослых пациентов не был выявлен. В группе детей 1-й тип был установлен у 53 (53,5%) пациентов, 2-й тип – у 39 (39,4%) и 3 тип – у 7 (7,1%) (рисунок 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Одной из основных проблем любых лабораторных исследований системы гемостаза, особенно в условиях дистанционной диагностики, является несоблюдение преаналитического этапа лабораторного анализа. Несмотря на тщательное планирование

Рисунок 2
Основные варианты преаналитических ошибок

Figure 2
The main variants of preanalytical errors



Таблица
Количество образцов из регионов с преаналитическими нарушениями

Table
The number of samples from the regions with preanalytical errors

Регион Region	Количество образцов, n (%) The number of samples, n (%)	Образцы с нарушениями преаналитики, n (%) Samples with preanalytical errors, n (%)
№1	28 (5,5)	1 (3,6)
№2	44 (8,6)	2 (4,6)
№3	20 (3,9)	12 (60)
№4	5 (1)	2 (40)
№5	31 (6,1)	4 (12,9)
№6	25 (4,9)	3 (12)
№7	18 (3,5)	1 (5,6)
№8	16 (3,1)	7 (43,6)
№9	54 (10,6)	1 (1,9)
№10	2 (0,4)	2 (100)
№11	2 (0,4)	2 (100)

Программы и наличие памятки по взятию и первичной пробоподготовке образцов, из 512 проб, поступивших в лабораторию, 42 были с различными нарушениями. Проблемы были выявлены в 11 (25%) регионах из 44. Наиболее проблемными оказались регионы №№3, 4, 8, 10 и 11, в которых процент ошибок составлял от 40 до 100%. И если из регионов №10 и №11 было отправлено всего по 2 образца, то в регионах №3 и №8 количество образцов с нарушением преаналитики превысило 20. Потенциально 21 пациент с БВ не получил результаты лабораторных исследований, и соответственно, остался без возможного

Рисунок 3
Результаты исследования отношения активности FVIII к vWF:Ag в рамках Программы

Figure 3
The ratio between the factor VIII (FVIII) activity and vWF antigen in the patients enrolled in the Program

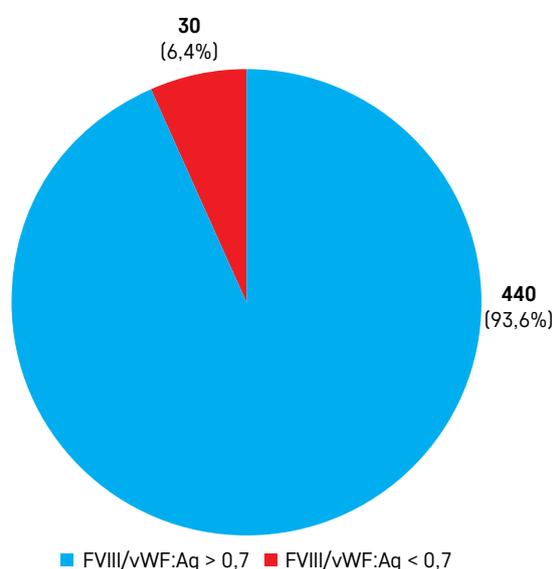
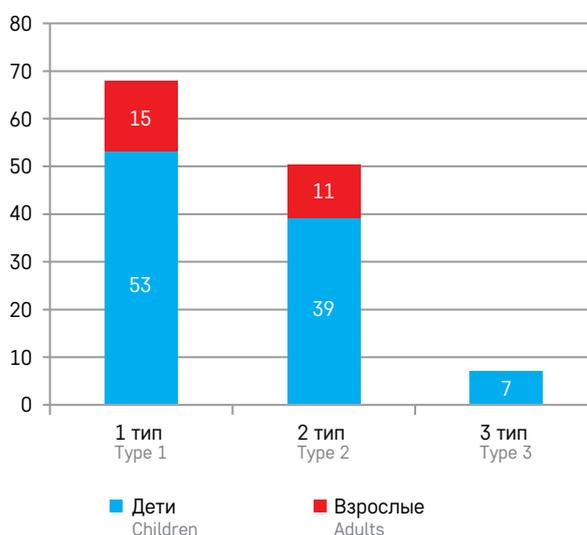


Рисунок 4
Распределение по типам БВ в зависимости от возраста пациентов с активностью vWF < 50%

Figure 4
The distribution by VWD types depending on the age of the patients with the VWF activity < 50%



диагноза. В регионах №№1, 2 и 9 доля ошибок не превышала 5%, что является общемировым допустимым уровнем [5]. Более половины ошибок (59,5%) допущены при взятии биоматериала у детей до 18 лет. Известно, что процедура венопункции у детей, особенно новорожденных, является сложной манипуляцией, требующей высокого уровня подготовки среднего медицинского персонала [14]. Сложность венозного доступа приводит к значительному увеличению преаналитических ошибок у детей по сравнению со взрослыми [15]. Самой частой ошибкой явилось наличие гемолиза (40,5% образцов), связанного с нарушением техники взятия крови у пациента либо условий центрифугирования. Гемолизированные пробы являются самой частой преаналитической ошибкой лабораторной диагностики [5, 15, 16]. Несмотря на способность большинства современных коагулометров измерять гемолизированные образцы, меняя длину волны детектирования, присутствие в образце большого количества тканевого фактора и других биологически активных веществ, влияющих на свертывание (протеазы, фосфолипиды, аденозиндифосфат), приводит к непредсказуемым изменениям результатов используемых лабораторных методик [17]. Гемолиз относится к категории «визуальных» ошибок, которые возможно детектировать еще на этапе первичной пробоподготовки образцов плазмы, и не отправлять такие пробы курьерской службой в лабораторию, а произвести повторное взятие крови у пациента с соблюдением техники забора. Таким образом, наибольшего количества преаналитических ошибок возможно было легко избежать еще до этапа транспортировки образцов, что, безусловно, вызывает недоумение. На втором месте по частоте оказались нарушения, связанные с образованием сгустков в образцах (35,7%), которое, вероятно, было связано с нарушениями холодной цепи при транспортировке. Согласно литературным данным, на втором и третьем местах по частоте преаналитических ошибок находятся неправильное наполнение пробирки – 11% (недостаточное или чрезмерное) и неправильный тип пробирки – 8% [5]. Поскольку в лабораторию поступали только вторичные пробирки с отобранной плазмой, оценить степень наполнения первичных пробирок не представлялось возможным. Неправильный тип пробирок выявлен у 4 пациентов (2 первичные и 2 вторичные пробирки). В 2 случаях в лабораторию направлены образцы замороженной цельной крови. Заморозка цельной крови, как и нарушение режима центрифугирования, недопустимы при диагностике БВ, так как приводят к высвобождению vWF из тромбоцитарных гранул, повышая исходный плазматический уровень [18, 19].

Тщательный отбор пациентов для участия в Программе способствовал детекции БВ у 26,6%

пациентов, направленных на исследование, что значительно превышает выявляемость БВ на амбулаторном этапе. Так, выявляемость БВ среди пациентов детского возраста, обратившихся за консультацией по поводу наличия клинических проявлений геморрагического синдрома, отягощенного семейного анамнеза или изменений в скрининговых коагулологических исследованиях в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева за период с 2020 по 2022 г., составила всего 3,6%. Стоит отметить, что более половины пациентов с предположительным диагнозом БВ имели активность vWF > 30%, но < 50%, и у всех были клинические проявления геморрагического синдрома, что и послужило основным критерием возможной постановки диагноза согласно международным рекомендациям [13].

При первичной оценке результатов Программы наблюдалось увеличение числа пациентов со 2-м типом БВ и уменьшение пациентов с 1-м типом по сравнению с литературными данными [3]. Предполагалось, что с увеличением выборки пациентов распределение по типам будет постепенно стремиться к данным литературы, однако этого не случилось, хотя число пациентов с 1-м типом увеличилось на 4,4% по сравнению с данными первичной оценки результатов Программы и составило 54,4% [10]. Пациенты с тяжелым 3-м типом составили 5,6% всех случаев БВ, со 2-м типом – 40%. Показано, что распределение диагностированных случаев БВ за рубежом, включая Австралию, Италию, Канаду, США, Аргентину, в первую очередь представлено БВ 1-го типа (> 70% случаев БВ), 2-го типа (~20% случаев БВ), за которым следует 3-й тип (< 5% случаев БВ). Это отражает «типичное» распределение типов БВ в развивающихся странах (на примере Ирана, Китая, Индии, Индонезии, Таиланда, Малайзии) 3-й тип часто составляет большинство выявленных случаев БВ, за которыми следуют случаи 2-го и 1-го типов. Это, вероятно, отражает распределение тяжести типов БВ, при которых пациентам требуется лечение [20]. По данным ежегодного глобального опроса Всемирной федерации гемофилии от 2021 г. [21], в развитых странах за год диагностируется большая часть предполагаемого числа пациентов: например, Австралия и Канада сообщают о диагностике ~100% предполагаемого числа пациентов с нарушениями свертываемости крови. Это означает, что ~100% предполагаемого числа пациентов с нарушениями свертываемости крови доступна диагностика в этих странах. Тем не менее эти результаты входят в противоречие с данными по распространенности кровотечений по неизвестным причинам [22]. Особого интереса заслуживает группа пациентов с пограничным значением активности vWF, учитывая, что она может зависеть от многих показателей, а также

сам факт транспортировки образцов, мы считаем необходимым тщательное сопоставление клинических симптомов и результатов обследования у пациентов данной группы с возможным проведением повторного исследования, которое не должно ограничиваться лишь исключением БВ в сомнительных случаях. Напротив, в развивающихся и бедных ресурсами странах сообщается о гораздо меньшем числе пациентов, чем предполагалось (относительная гиподиагностика). В соответствии с ожидаемой схожей распространенностью гемофилии и БВ развитые страны сообщают о схожем количестве случаев этих заболеваний в опросе Всемирной федерации гемофилии. Напротив, в развивающихся странах сообщается о гораздо большем числе лиц с гемофилией, чем с БВ. Это предполагает относительный недоучет (или гиподиагностику) БВ [21].

В группе взрослых пациентов не было выявлено ни одного случая с 3-м типом БВ, который обычно выявляется в раннем детском возрасте ввиду выраженности клинических проявлений. Основное большинство – это пациенты с легкими клиническими проявлениями, среди которых 15 с 1-м типом и 11 со 2-м типом БВ. Ожидаемо, что три четверти взрослых пациентов составляли женщины, основным клиническим проявлением которых является меноррагия [1]. Удивительно, что одна из пациенток была направлена на диагностику БВ только в возрасте 67 лет, и только после того, как ее сыну был установлен диагноз БВ. Среди когорты пациентов детского возраста тяжелый 3-й тип установлен у 7, 2-й тип – у 39 и 1-й тип – у 53 пациентов. Возраст на момент диагностики варьировал от 1 месяца до 17 лет и, вероятно, зависел от тяжести клинических проявлений и настороженности клинициста в регионе относительно БВ.

Точное определение 2-го типа БВ требует выполнения дополнительных специализированных исследований, включающих в себя коллаген-связывающую способность vWF, FVIII-связывающую способность vWF и оценку распределения мультимерных форм, а также генетическую диагностику [3, 23]. Данные исследования не включены в Программу на текущий момент, но при необходимости могут быть проведены на базе лаборатории клинического гемостаза НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Учитывая, что для лечения пациентов с БВ используется заместительная терапия концентратами vWF, на данный момент точная дифференциальная диагностика требуется для 2N типа БВ, который характеризуется нарушением связывания FVIII с vWF и клинически схож со среднетяжелой формой гемофилии А [24]. Нами были

выявлены 26 (5,5%) пациентов со снижением активности FVIII при нормальных значениях vWF:Ag. Такие пациенты нуждаются в дополнительных исследованиях – определении FVIII-связывающей способности vWF и генетическом анализе для дифференциальной диагностики с гемофилией А. Одной пациентке с подозрением на 2N тип было выполнено исследование FVIII-связывающей способности vWF, выявлено практически полное отсутствие способности vWF у нее связывать рекомбинантный FVIII. Таким образом, диагноз БВ 2N типа был подтвержден [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Программа является прекрасной возможностью провести исследования пациентам с подозрением на БВ на базе современной высокопрофессиональной лаборатории, что позволит в максимально короткий срок установить причину геморрагических проявлений у пациента и своевременно назначить профилактику или специфическую для конкретного типа заболевания терапию, а значит, избежать осложнений, которые могут возникать у пациентов с коагулопатиями в течение жизни. Немаловажным является тот факт, что Программа абсолютно бесплатна для пациентов, что позволяет любому гражданину России принять в ней участие. Основные проблемы связаны с достаточно высоким уровнем ошибок в отдельных регионах, для профилактики которых необходимо проводить образовательные мероприятия, направленные на обучение среднего медицинского персонала, выявление и решение проблем, связанных с оборудованием для правильной первичной пробоподготовки, кроме того, важно строгое соблюдение преаналитического этапа в лабораторной диагностике патологии системы гемостаза, в частности БВ.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Коллектив авторов выражает благодарность президенту Всероссийского общества гемофилии Юрию Александровичу Жулеву, а также всем медицинским работникам, принявшим участие в Программе.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

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

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

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

Литература / References

- Leebeek F.W.G., Eikenboom J.C.J. Von Willebrand's Disease. *N Engl J Med* 2016; 375 (21): 2067–80.
- Rodeghiero F., Castaman G., Dini E. Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand's disease. *Blood* 1987; 69 (2): 454–9.
- Nichols W.L., Hultin M.B., James A.H., Manco-Johnson M.J., Montgomery R.R., Ortel T.L., et al. von Willebrand disease (VWD): evidence-based diagnosis and management guidelines, the National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) Expert Panel report (USA). *Haemophilia* 2008; 14 (2): 171–232.
- Favaloro E.J., Dean E., Arunachalam S., Vong R., Mohammed S. Evaluating errors in the laboratory identification of von Willebrand disease using contemporary von Willebrand factor assays. *Pathology* 2022; 54 (3): 308–17.
- Lippi G., Von Meyer A., Cadamuro J., Simundic A.-M. Blood sample quality. *Diagnosis* 2019; 6 (1): 25–31.
- Timm A., Fahrénkrug J., Jørgensen H.L., Sennels H.P., Goetze J.P. Diurnal variation of von Willebrand factor in plasma: the Bispebjerg study of diurnal variations. *Eur J Haematol* 2014; 93 (1): 48–53.
- Knol H., Kemperman R.F.J., Kluin-Nelemans H.C., Mulder A.B., Meijer K. Haemostatic variables during normal menstrual cycle: A systematic review. *Thromb Haemost* 2012; 107 (01): 22–9.
- Desch K.C. Regulation of plasma von Willebrand factor. *F1000Res* 2018; 7: 96.
- Sanders Y.V., Giezenaar M.A., Laros-van Gorkom B.A.P., Meijer K., van der Bom J.G., Cnossen M.H., et al. von Willebrand disease and aging: an evolving phenotype. *J Thromb Haemost* 2014; 12 (7): 1066–75.
- Полетаев А.В., Серегина Е.А., Федорова Д.В., Жарков П.А. Современные возможности дистанционной диагностики болезни Виллебранда у детей, проживающих на территории Российской Федерации. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2020; 19 (3): 54–60. DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-54-60 [Poletaev A.V., Seregina E.A., Fedorova D.V., Zharkov P.A. The current status of remote diagnosis of von Willebrand disease in children in Russia. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2020; 19 (3): 54–60. (In Russ.)].
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays (5th ed., H21-A5). 2008.
- Зозуля Н.И., Кумскова М.А., Лихачева Е.А., Свиринов П.В. Клинические рекомендации по диагностике и лечению болезни Виллебранда. Национальное гематологическое общество; 2018. [N.I. Zozulya, M.A. Kumsikova, E.A. Likhacheva, P.V. Svirin. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of von Willebrand disease. National Society of Hematology; 2018. (In Russ.)].
- James P.D., Connell N.T., Ameer B., Di Paola J., Eikenboom J., Giraud N., et al. ASH ISTH NHF WFH 2021 guidelines on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood Adv* 2021; 5 (1): 280–300.
- Eberl W. Diagnostic Challenges in Newborns and Infants with Coagulation Disorders. *Hamostaseologie* 2020; 40 (1): 84–7.
- Salvagno G.L., Lippi G., Bassi A., Poli G., Guidi G.C. Prevalence and type of pre-analytical problems for inpatient samples in coagulation laboratory. *J Eval Clin Pract* 2008; 14 (2): 351–3.
- Carraro P., Servidio G., Plebani M. Hemolyzed specimens: a reason for rejection or a clinical challenge? *Clin Chem* 2000; 46 (2): 306–7.
- Favaloro E.J., Lippi G. Preanalytical issues that may cause misdiagnosis in haemophilia and von Willebrand disease. *Haemophilia* 2018; 24 (2): 198–210.
- Böhm M., Täschner S., Kretzschmar E., Gerlach R., Favaloro E.J., Scharrer I. Cold storage of citrated whole blood induces drastic time-dependent losses in factor VIII and von Willebrand factor: potential for misdiagnosis of haemophilia and von Willebrand disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2006; 17 (1): 39–45.
- Favaloro E.J., Soltani S., McDonald J. Potential Laboratory Misdiagnosis of Hemophilia and von Willebrand Disorder Owing to Cold Activation of Blood Samples for Testing. *Am J Clin Pathol* 2004; 122 (5): 686–92.
- Favaloro E. Von Willebrand Disease: Local Diagnosis and Management of a Globally Distributed Bleeding Disorder. *Semin Thromb Hemost* 2011; 37 (5): 440–55.
- Annual Global Survey. World Federation of Hemophilia. 2021. [Electronic resource] <https://wfh.org/usa/research-and-data-collection/annual-global-survey/>. (accessed 25.11.2024).
- Mehic D., Pabinger I., Gebhart J. Investigating patients for bleeding disorders when most of the “usual” ones have been ruled out. *Res Pract Thromb Haemost* 2023; 7 (8): 102242.
- Oliver S., Lau K.K.E., Chapman K., Favaloro E.J. Laboratory Testing for Von Willebrand Factor Multimers. *Hemostasis and Thrombosis. Methods Mol Biol* 2017; 1646: 495–511.
- Mazurier C., Goudemand J., Hilbert L., Caron C., Fressinaud E., Meyer D. Type 2N von Willebrand disease: clinical manifestations, pathophysiology, laboratory diagnosis and molecular biology. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001; 14 (2): 337–47.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-119-130

Оценка эффективности и безопасности заместительной терапии иммуноглобулином для подкожного введения 16,5% с использованием ручного метода инфузии у пациентов с врожденным дефектом иммунной системы: результаты мультицентрового проспективного исследования

А.Я. Аведова¹, Е.В. Дерипапа¹, Ю.А. Родина¹, А.А. Мухина¹, Е.А. Латышева², Д.В. Юхачева¹, В.И. Бурлаков¹, Н.Ю. Кан¹, Д.В. Богданова¹, А.А. Моисеева¹, Н.Б. Кузьменко¹, З.А. Нестеренко¹, Е.А. Деордиева¹, А.Л. Огнева¹, В.О. Блудова¹, А.А. Роппель³, Д.С. Фомина³, Н.В. Зиновьева⁴, Ю.Н. Севостьянова⁴, Л.Р. Кальметьева⁵, Д.Д. Пролыгина⁵, Л.Ю. Барычева⁶, О.С. Селезнева⁷, Н.В. Шахова⁸, О.М. Лаба⁹, Е.В. Власова¹⁰, А.В. Горенкова¹¹, Е.В. Тимофеева¹², О.В. Трусова¹³, М.Н. Гусева¹³, Н.Б. Юдина¹⁴, А.Х. Ибишева¹⁵, З.В. Бамбаева¹⁶, Д.В. Машковская¹⁷, С.Н. Исакова¹⁸, А.Р. Шакирова¹⁹, Е.Ю. Селина¹⁹, Т.В. Шилова²⁰, Е.С. Зубова²¹, Е.В. Красилова²², И.У. Хабаева²², Е.В. Китова²³, А.Г. Манджиева²⁴, С.Ю. Старикова²⁵, Т.Б. Павлова²⁶, Э.Н. Тюлякова²⁷, П.А. Левин¹, А.Ю. Щербина¹

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

²ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, Москва

³Московский городской научно-практический центр аллергологии и иммунологии ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница №52 Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

⁴ГБУЗ г. Москвы «Детская городская клиническая больница №9 им. Г.Н. Сперанского Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

⁵ГБУЗ «Республиканская детская клиническая больница», Уфа

⁶ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставрополь

⁷ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», Ростов-на-Дону

⁸ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул

⁹ГБУЗ ЯО «Областная детская клиническая больница», Ярославль

¹⁰ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург

¹¹ГБУЗ АО «Архангельская областная детская клиническая больница им. П.Г. Выжлецова», Архангельск

¹²ГБУЗ НО «Нижегородская областная детская клиническая больница», Нижний Новгород

¹³ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

¹⁴БУЗ ВО «Воронежская областная детская клиническая больница №1», Воронеж

¹⁵ГБУ «Республиканская детская клиническая больница им. Е.П. Глинки», Грозный

¹⁶ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница», Улан-Удэ

¹⁷ГБУЗ РК «Республиканская детская клиническая больница», Симферополь

¹⁸ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск

¹⁹ГАУЗ «Республиканская детская клиническая больница» Минздрава Республики Татарстан, Казань

²⁰ГАУЗ «Челябинская областная детская клиническая больница», Челябинск

²¹КБУЗ ПК «Краевая детская клиническая больница», Пермь

²²ГБУЗ АО «Областная детская клиническая больница им. Н.Н. Силищевой», Астрахань

²³БУЗ УР «Республиканская детская клиническая больница» Минздрава Удмуртской Республики, Ижевск

²⁴ООО «Филатовская клиника», Тюмень

²⁵БУЗ ОО «Городская детская клиническая больница №2 им. В.П. Бисяриной», Омск

²⁶ГБУЗ «Иркутская государственная областная детская клиническая больница», Иркутск

²⁷ГБУЗ КО «Калужская областная детская клиническая больница», Калуга

Препараты иммуноглобулинов для подкожного введения (ПКИГ) широко используются в международной иммунологической практике у пациентов с врожденными дефектами иммунитета (ВДИ) и демонстрируют эффективность и хорошую переносимость. В данном исследовании была проведена оценка эффективности и безопасности заместительной терапии ПКИГ на большой гетерогенной группе пациентов с ВДИ. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Все пациенты и/или их законные представители подписали информированное согласие на участие в исследовании. Пациенты с ВДИ, ранее получавшие заместительную терапию иммуноглобулинами для внутривенного введения (ВВИГ) были конвертированы на терапию ПКИГ 16,5%. Инфузии ПКИГ выполнялись каждые 7–10 дней методом “rapid push” («быстрые

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 21.05.2024
Принята к печати 26.09.2024



EDN: NYDEKL

Контактная информация:

Аведова Асмик Яковлевна,
врач-аллерголог-иммунолог отделения
иммунологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: asya.avedova95@mail.ru

толчки») в течение 12 мес. По итогам исследования были проанализированы следующие критерии эффективности и безопасности: частота инфекций и связанных с ними событий, концентрация сывороточного иммуноглобулина G, нежелательные реакции и приверженность пациентов к терапии. В исследование были включены 233 пациента (медиана возраста – 11 лет, пациенты мужского пола составили 66,0%), 200 – завершили его. Всего в ходе исследования было выполнено 8787 инфузий ПКИГ. Частота инфекций (на 1 человека в месяц) на терапии ПКИГ составила 0,05, что было статистически меньше в сравнении с терапией ВВИГ ($p < 0,001$). Медиана минимального уровня иммуноглобулина G составила 6,9 г/л на терапии ВВИГ, 9,0 г/л в течение первых 6 мес терапии ПКИГ и 9,2 г/л в течение 7–12 мес терапии ПКИГ. Системные реакции наблюдались в 12,45% инфузий ВВИГ и в 1,93% инфузий ПКИГ ($p < 0,001$). Полученные результаты демонстрируют эффективность и безопасность заместительной терапии ПКИГ с использованием ручного метода инфузии.

Ключевые слова: врожденный дефект иммунитета, иммуноглобулины для подкожного введения, иммуноглобулины для внутривенного введения, эффективность, безопасность, приверженность к терапии, ручной метод

Аведова А.Я. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 119–30.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-119-130

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 21.05.2024

Accepted 26.09.2024

An assessment of efficacy and safety of replacement therapy with subcutaneous immunoglobulin 16.5% administered by rapid push method in patients with inborn errors of immunity: the results of a prospective multicenter study

A.Ya. Avedova¹, E.V. Deripapa¹, Yu.A. Rodina¹, A.A. Mukhina¹, E.A. Latysheva², D.V. Yukhacheva¹, V.I. Burlakov¹, N.Yu. Kan¹, D.V. Bogdanova¹, A.A. Moiseeva¹, N.B. Kuzmenko¹, Z.A. Nesterenko¹, E.A. Deordieva¹, A.L. Ogneva¹, V.O. Bludova¹, A.A. Roppelt³, D.S. Fomina³, N.V. Zinovieva⁴, Yu.N. Sevostyanova⁴, L.R. Kalmetyeva⁵, D.D. Prolygina⁵, L.Yu. Barycheva⁶, O.S. Selezneva⁷, N.V. Shakhova⁸, O.M. Laba⁹, E.V. Vlasova¹⁰, A.V. Gorenkova¹¹, E.V. Timofeeva¹², O.V. Trusova¹³, M.N. Guseva¹³, N.B. Yudina¹⁴, A.Kh. Ibisheva¹⁵, Z.V. Bambaeva¹⁶, D.V. Mashkovskaya¹⁷, S.N. Isakova¹⁸, A.R. Shakirova¹⁹, E.Yu. Selina¹⁹, T.V. Shilova²⁰, E.S. Zubova²¹, E.V. Krasilova²², I.U. Khabaeva²², E.V. Kitova²³, A.G. Mandzhieva²⁴, S.Yu. Starikova²⁵, T.B. Pavlova²⁶, E.N. Tyulyakova²⁷, P.A. Levin¹, A.Yu. Shcherbina¹

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

²The Institute of Immunology of the Federal Medical Biological Agency, Moscow

³Moscow Center of Allergy and Immunology, Clinical Hospital No. 52 of Department of Health of Moscow, Moscow

⁴The G.N. Speransky Children's Clinical Hospital No. 9 of Department of Health of Moscow, Moscow

⁵Republican Children's Clinical Hospital, Ufa

⁶Stavropol State Medical University of Ministry of Healthcare of Russia, Stavropol

⁷Regional Children's Clinical Hospital, Rostov-on-Don

⁸Altai State Medical University of Ministry of Healthcare of Russia, Barnaul

⁹Regional Children's Clinical Hospital, Yaroslavl

¹⁰Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg

¹¹The P.G. Vyzhletsov Arkhangelsk Regional Children's Clinical Hospital, Arkhangelsk

¹²Nizhny Novgorod Regional Children's Clinical Hospital, Nizhny Novgorod

¹³The I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University of Ministry of Healthcare of Russia, Saint Petersburg

¹⁴Voronezh Regional Children's Clinical Hospital No. 1, Voronezh

¹⁵The E.P. Glinka Republican Children's Clinical Hospital, Grozny

¹⁶Republican Children's Clinical Hospital, Ulan-Ude

¹⁷Republican Children's Clinical Hospital, Simferopol

¹⁸Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk

¹⁹Republican Children's Clinical Hospital of Ministry of Healthcare of the Republic of Tatarstan, Kazan

²⁰Chelyabinsk Regional Children's Clinical Hospital, Chelyabinsk

²¹Regional Children's Clinical Hospital, Perm

²²The N.N. Silishcheva Regional Children's Clinical Hospital, Astrakhan

²³Republican Children's Clinical Hospital of Ministry of Healthcare of the Udmurt Republic, Izhevsk

²⁴The Filatov Hospital, Tyumen

²⁵The V.P. Bisyarina Children's Clinical Hospital No. 2, Omsk

²⁶Irkutsk State Regional Children's Clinical Hospital, Irkutsk

²⁷Kaluga Regional Children's Clinical Hospital, Kaluga

Correspondence:

Asmik Ya. Avedova,
an allergist-immunologist at the Immunology
Department of 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: asya.avedova95@mail.ru

Subcutaneous immunoglobulins (SCIGs) have been widely used in patients with inborn errors of immunity (IEIs) and have been shown to be effective and well tolerated. Here, we assessed efficacy and safety of replacement therapy with SCIGs in a large heterogeneous cohort of patients with IEIs. 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 Russia. All the patients and/or their legal representatives signed informed consent for participation in the study. Patients with IEIs, previously treated with intravenous immunoglobulins (IVIgs) were switched to SCIGs 16.5%. The drug was administered every 7–10 days using rapid push method for 12 months. In the end, we analyzed the following efficacy and safety criteria: the rate of infections and associated events, serum immunoglobulin G concentrations, adverse reactions and patient compliance. We had recruited 233 patients (the median age was 11 years, the percentage of male patients was 66.0%), and 200 out of these completed the study. A total of 8787 SCIG infusions were administered during the study. The infection rate (per 1 patient per month) on SCIG treatment was 0.05, which was significantly lower compared to the IVIg therapy ($p < 0.001$). The median trough IgG level was 6.9 g/l on IVIgs, 9.0 g/l during the first 6 months of SCIGs and 9.2 g/l over 7–12 months of SCIG treatment. Systemic reactions were registered in 12.45% of IVIg infusions and in 1.93% of SCIG infusions ($p < 0.001$). Our study demonstrates the safety and efficacy of replacement therapy with SCIGs administered via rapid push method.

Key words: inborn errors of immunity, subcutaneous immunoglobulins, intravenous immunoglobulins, efficacy, safety, patient compliance, rapid push method

Avedova A.Ya., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 119–30.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-119-130

Врожденные дефекты иммунной системы (ВДИ; прежнее название – первичные иммунодефициты (ПИД)) – это генетически детерминированные заболевания с широким спектром клинических проявлений с манифестацией в разном возрасте [1, 2]. Инфекционные проявления по-прежнему являются основной причиной morbidity и mortality как у детей, так и взрослых с ВДИ.

«Золотым стандартом» лечения пациентов с дефицитом сывороточных иммуноглобулинов или нарушением специфического антителообразования в рамках ВДИ является заместительная терапия препаратами иммуноглобулинов [3].

В иммунологической практике в качестве основных терапевтических форм со второй половины XX века используют иммуноглобулины для внутривенного (ВВИГ) и подкожного (ПКИГ) введения [4, 5].

Привлекательность ПКИГ состоит в потенциальной возможности его применения в домашних условиях, что делает этот метод терапии выгодным с экономической точки зрения [6]. Кроме того, при терапии ПКИГ исключены технические трудности, связанные со сложным венозным доступом, в особенности у пациентов младшего детского возраста.

В настоящее время выполнение инфузии ПКИГ возможно двумя методами: ручным способом – “rapid push” («быстрые толчки») и с помощью специализированной инфузионной помпы.

К преимуществам ручного метода выполнения инфузии ПКИГ относятся возможность их проведения без технических приспособлений с использованием минимального расходного материала (шприцы, иглы-бабочки), индивидуализированный для каждого пациента подход к скорости введения препарата, меньший риск развития местного некроза подкожно-жировой клетчатки в связи с «управляемым» вручную давлением на ткани, снижение экономических затрат на расходные материалы для помпы [7].

По данным международной литературы, терапия ВВИГ и ПКИГ показала высокую и сравнимую эффективность в снижении частоты инфекционных осложнений у пациентов с ВДИ [8, 9], однако на территории Российской Федерации (РФ) опыт использования ПКИГ до недавнего времени был ограничен единичными пациентами [10].

Актуальность заместительной терапии препаратами иммуноглобулинов у детей и взрослых с ВДИ на территории РФ демонстрируют ряд работ [11, 12]. Однако сложившийся во время пандемии COVID-19 дефицит высокоочищенных препаратов иммуноглобулинов потребовал оптимизации подходов к заместительной терапии пациентов. Возможность универсального амбулаторного применения ПКИГ на территории РФ и эффективность этого метода доставки в условиях реальной клинической практики

требовали подтверждения в соответствии со стандартами доказательной медицины, что и послужило основой для проведения данного многоцентрового исследования.

Целью данной работы явилась оценка эффективности и безопасности заместительной терапии препаратом ПКИГ 16,5% на большой гетерогенной группе пациентов с ВДИ на территории РФ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пациенты

В данном исследовании проведен анализ основных критериев эффективности и безопасности заместительной терапии ПКИГ у 233 пациентов с ВДИ. Диагноз ВДИ был поставлен на основании диагностических критериев Европейского общества иммунодефицитов (European Society for Immunodeficiencies; <https://esid.org/Working-Parties/Registry-Working>). Включение пациентов в исследование осуществлялось независимо от пола и возраста.

Основная когорта была представлена пациентами детского возраста (младше 18 лет) – 216 (92,7%) человек, взрослые пациенты составили 16 (7,3%) человек. Медиана возраста во всей выборке составила 11 лет (диапазон от 1 года до 65 лет) (*приложение, рисунок 1*). Пациенты мужского пола составили 154 (66%) человека, а женского пола – 79 (34%).

Спектр клинических диагнозов был разнообразен и представлен комбинированными и гуморальными дефектами иммунной системы в соответствии с общепринятой классификацией [13] (*приложение, таблица 1*).

Из 233 пациентов, включенных в исследование, до достижения точки 6 мес были исключены 33 человека: родители 2 пациентов детского возраста отказались от применения ПКИГ по причине эмоциональной лабильности детей при проведении подкожных инфузий; 5 пациентам была проведена аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), и они стали соответствовать критериям исключения; 26 пациентов выбыли из исследования по собственной инициативе по причине отказа от регулярного мониторинга требуемых показателей и прохождения анкетирования, однако продолжили получать терапию ПКИГ.

Таким образом, анализ особенностей заместительной терапии ПКИГ в сравнении с ранее проводимой терапией ВВИГ проводился на группе из 200 пациентов с ВДИ.

Характеристика и дизайн исследования

Сбор медицинской информации, анализируемой в исследовании, осуществлялся на платформе

Российского регистра ПИД Национальной ассоциации экспертов в области ПИД (НАЭПИД). Источником информации в ретроспективной части исследования являлись также данные регистра и медицинской документации пациентов.

В исследовании принимали участие специалисты федеральных центров: ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, а также коллективы врачей из 39 регионов РФ.

Критериями включения пациентов в исследование являлись верифицированный диагноз ВДИ, решение о проведении заместительной терапии ПКИГ по назначению лечащего врача и при согласии пациентов/их законных представителей, анамнестические данные о проведении регулярной заместительной терапии препаратами ВВИГ на протяжении не менее 6 мес до перехода на терапию ПКИГ.

К критериям исключения пациентов из исследования были отнесены активное онкологическое заболевание, проведение ТГСК, прекращение или нерегулярное проведение терапии ПКИГ, тяжелые реакции на введение препарата, отказ пациентов/их законных представителей от дальнейшего участия в исследовании.

Те из них, которые дали согласие на участие в исследовании и отвечали критериям, были рекрутированы с помощью врачей-участников-исследования. В проспективной части исследования (терапия ПКИГ) проводился анализ основных критериев эффективности и безопасности терапии за первые 6 мес и за 7–12 мес терапии.

Для оценки эффективности заместительной терапии ВВИГ и ПКИГ были утверждены следующие критерии: концентрация сывороточного иммуноглобулина G (IgG), среднее число острых инфекционных эпизодов на человека в месяц, суммарная длительность назначения дополнительных антибактериальных препаратов для лечения острых инфекционных эпизодов, среднее число госпитализаций по причине инфекционных заболеваний на человека в месяц, длительность госпитализаций по причине инфекционных заболеваний.

Для сравнительной оценки концентрации сывороточного IgG в динамике, учитывая разное количество фиксированных результатов концентрации IgG, для каждого пациента был проведен расчет средних значений концентраций за три периода: 6 мес заместительной терапии ВВИГ, 1–6 мес и 7–12 мес терапии ПКИГ. При этом у каждого пациента было не менее трех промежуточных результатов концентрации сывороточного IgG за 6-месячный период заместительной терапии ВВИГ и ПКИГ.

При оценке количества инфекционных эпизодов фиксировались те случаи, которые требовали

назначения системной антибактериальной терапии. В целях нивелирования внешних факторов, влияющих на частоту инфекционных эпизодов, таких как сезонность, их количество оценивалось как среднее на человека в месяц за указанный период. Также отдельно проведена оценка инфекционных эпизодов у пациентов с комбинированными иммунодефицитами и у пациентов с дефектом гуморального звена иммунитета.

В целях оценки безопасности заместительной терапии ВВИГ и ПКИГ фиксировалось количество нежелательных реакций, в том числе серьезных. Каждая нежелательная реакция оценивалась как отдельное событие. При проведении сравнительной оценки нежелательных реакций на терапии ВВИГ и ПКИГ был также выполнен расчет общего количества реакций в процентах от общего количества инфузий. Отдельно проводилась оценка местных реакций на заместительной терапии ПКИГ, фиксация которых выполнялась ежемесячно по результатам наблюдений пациентов и/или их законных представителей.

В целях оценки качества жизни пациентов при переходе с терапии ВВИГ на ПКИГ было проведено анкетирование с использованием опросников Pediatric Quality of Life Inventory Russian, version 4.0 (PedsQL 4.0), Short Form-36 (SF36), а также специализированных опросников, разработанных в рамках данного исследования. По оценке качества жизни пациентов и приверженности к терапии ПКИГ сделана отдельная публикация [14].

Этика

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, зарегистрировано как наблюдательное, проспективное с ретроспективной фазой многоцентровое исследование IV фазы у пациентов с ВДИ (www.clinicaltrials.gov; идентификационный код: NCT05986734). Все пациенты и/или их законные представители подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Особенности заместительной терапии препаратами иммуноглобулинов

В ретроспективной фазе исследования всем пациентам проводилась заместительная терапия различными препаратами ВВИГ в индивидуально подобранной дозировке 0,4–0,7 г/кг в режиме 1 раз в 3–4 нед.

В проспективной части исследования проводилась терапия ПКИГ 16,5%. Назначение терапии ПКИГ осуществлялось в эквивалентной дозировке предшествующей терапии ВВИГ. Инфузия ПКИГ проводилась

ручным методом с использованием техники “rapid push” («быстрые толчки»). Всем пациентам первое введение ПКИГ проводилось в условиях стационара, в дальнейшем введения проводились на дому, в условиях дневного или круглосуточного стационаров по решению родителей.

Проведение инфузии ПКИГ в соответствии с инструкцией к препарату осуществлялось в следующие анатомические области: передняя брюшная стенка, ниже-латеральные отделы спины, боковые поверхности плеч и бедер, ягодичы (*приложение, рисунок 2*).

Статистический анализ

Статистический анализ проводился с помощью Microsoft Excel 2019 и RStudio Server 1.3.959. Количественные показатели описывались с помощью медианы, 1-го и 3-го квартилей, минимума и максимума. Данные подсчета описывались абсолютными показателями и долями в процентах. В ситуации, когда большая часть наблюдений показателя нули, он описывался средним и долей нулей. Значимость различий между показателями пациентов на различных этапах исследования устанавливалась при помощи теста Манна–Уитни для парных данных с поправкой Бонферрони–Холма, где необходимо. Значимость различий между пропорциями устанавливалась при помощи теста хи-квадрат. Уровень значимости полагался при p , равном или менее 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общее количество инфузий за 6 мес терапии ВВИГ составило 1398, из которых 1386 (99,1%) были проведены в условиях стационара, оставшаяся часть инфузий была выполнена в домашних условиях медицинским персоналом.

За 12 мес терапии ПКИГ было выполнено 8787 инфузий, из которых в условиях стационара были проведены 435 (9,7%). Практически все пациенты старше 18 лет проводили инфузию самостоятельно, из детской когорты пациентов самостоятельно выполняли подкожные введения 34 пациента подросткового возраста, в остальных случаях инфузии осуществлялись родителями/родственниками пациентов.

Средняя ежемесячная дозировка ПКИГ составила 0,57 г/кг (0,18; 0,89) г/кг. В соответствии с расчетной дозировкой средний разовый объем введения составил 17,2 (4,5; 60) мл. Средняя продолжительность введения – 29,73 (2; 120) мин, с течением времени была отмечена тенденция к сокращению времени выполнения инфузии (*приложение, таблица 2*).

Оценка эффективности заместительной терапии Концентрация сывороточного иммуноглобулина G

Было продемонстрировано статистически значимое повышение средних концентраций сывороточного IgG в динамике на терапии ПКИГ в сравнении с ранее проводимой терапией ВВИГ ($p < 0,001$). Медиана концентрации IgG на терапии ВВИГ составила 6,9 (5,2; 9,1) г/л, в первые 6 мес терапии ПКИГ – 9 (7,3; 11,6) г/л, в последующие 6 мес терапии ПКИГ – 9,2 (7,8; 11,4) г/л, что демонстрирует тенденцию к стойкому поддержанию высокой концентрации IgG на терапии ПКИГ с течением времени (*рисунок 1*).

Инфекционные осложнения и связанные с ними события

Анализ количества инфекционных эпизодов на человека в месяц на терапии ПКИГ в сравнении с терапией ВВИГ в группе взрослых пациентов и пациентов детского возраста продемонстрировал статистически значимое снижение количества инфекций на терапии ПКИГ в обеих анализируемых группах ($p < 0,001$) (*рисунок 2*). Было продемонстрировано, что средняя частота инфекционных осложнений в месяц, требовавших проведения антибактериальной терапии, при использовании ПКИГ составила 0,05 (у 66% пациентов не было зафиксировано инфекционных эпизодов), при применении ВВИГ – 0,19 (у 38% пациентов не было зафиксировано инфекционных эпизодов). Сравнительный анализ между группой пациентов с комбинированными и гуморальными дефектами иммунной системы продемонстрировал статистически значимое снижение инфекций в обеих группах пациентов ($p < 0,001$) (*рисунок 3*).

При оценке длительности проведения антибактериальной терапии по причине инфекционных заболеваний было продемонстрировано статистически значимое снижение суммарного количества дней приема антибактериальных препаратов на терапии ПКИГ в сравнении с ранее проводимой терапией ВВИГ ($p < 0,001$) (*рисунок 4*).

Анализ количества госпитализаций в стационар по причине инфекционных заболеваний выявил их статистически значимое снижение на терапии ПКИГ в сравнении с ВВИГ ($p < 0,001$) (*рисунок 5*). Среднее количество госпитализаций на человека в месяц на терапии ВВИГ составило 0,04 (у 81% пациентов не было госпитализаций), на терапии ПКИГ – 0,01 (у 90% пациентов не было госпитализаций).

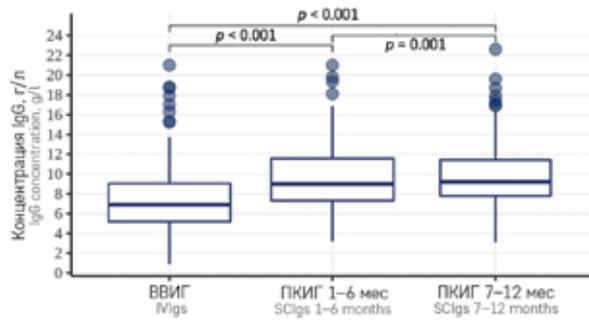
При оценке длительности госпитализаций в стационар по причине инфекционных заболеваний было продемонстрировано сокращение количества дней пребывания в стационаре, которое достигло статистической значимости ко второму полугодю заместительной терапии ПКИГ ($p < 0,001$) (*рисунок 6*).

Рисунок 1

Сравнительная оценка концентраций IgG на терапии ВВИГ и ПККИГ

Figure 1

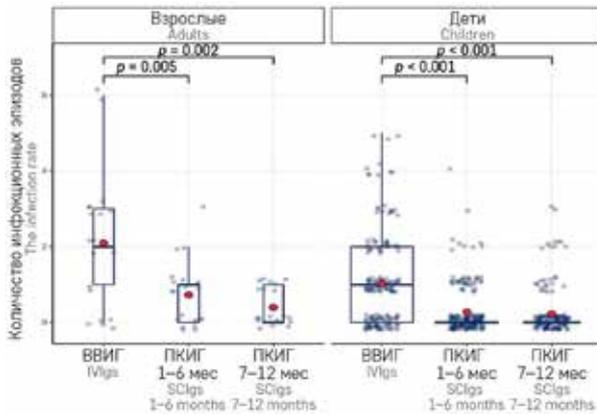
A comparative analysis of IgG concentrations in the patients treated with intravenous (IVIg) and subcutaneous (SCIg) immunoglobulins

**Рисунок 2**

Количество инфекционных эпизодов на терапии ВВИГ и ПККИГ

Figure 2

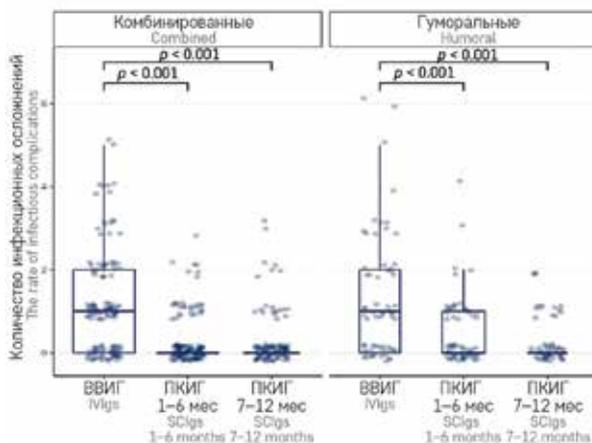
The infection rate during IVIg and SCIg treatment

**Рисунок 3**

Оценка инфекционных осложнений у пациентов с комбинированными и гуморальными иммунодефицитами

Figure 3

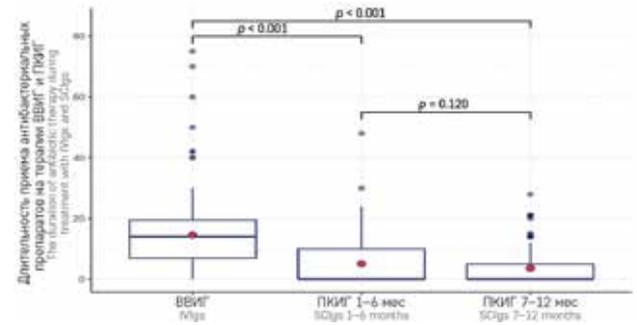
An assessment of infectious complications in the patients with combined and humoral immunodeficiencies

**Рисунок 4**

Длительность приема антибактериальных препаратов на терапии ВВИГ и ПККИГ

Figure 4

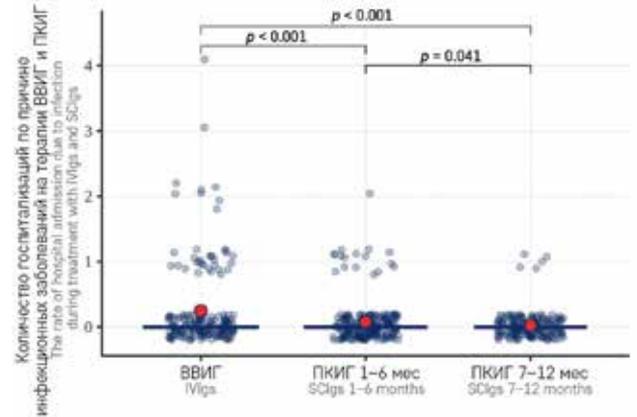
The duration of antibiotic therapy during treatment with IVIgs and SCIgs

**Рисунок 5**

Количество госпитализаций по причине инфекционных заболеваний на терапии ВВИГ и ПККИГ

Figure 5

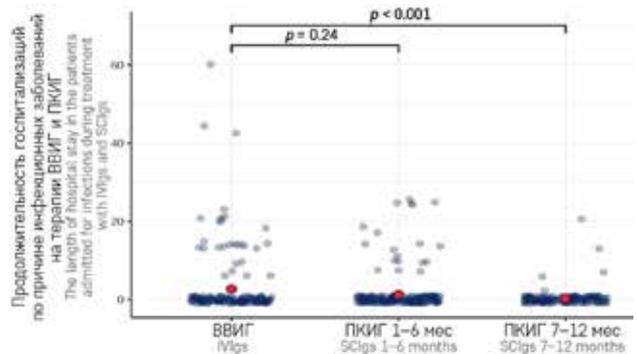
The rate of hospital admission due to infection during treatment with IVIgs and SCIgs

**Рисунок 6**

Продолжительность госпитализаций по причине инфекционных заболеваний на терапии ВВИГ и ПККИГ

Figure 6

The length of hospital stay in the patients admitted for infections during treatment with IVIgs and SCIgs



Оценка безопасности заместительной терапии подкожным иммуноглобулином

Основную часть локальных реакций на терапии ПККИГ составляли ожидаемые местные реакции, к которым были отнесены инфильтрация в месте введения длительностью от нескольких часов до нескольких суток, гиперемия и зуд. Было продемонстрировано, что в первые 6 мес терапии ПККИГ отсутствовали местные реакции при 28,2% инфузий, а в последующие 6 мес – при 36,9% инфузий, что может свидетельствовать о постепенной адаптации тканей к подкожным инъекциям. Подробная характеристика ожидаемых местных реакций на терапии ПККИГ представлена в *таблице 1*.

За период наблюдения также были зарегистрированы другие локальные реакции, к которым были отнесены подкожные узелки в местах инъекций у 3 пациентов, контактный дерматит от асептического

пластыря у 2 пациентов, локальная кровоточивость у 1 пациента, вероятно, связанная с поверхностным атипичным расположением кровеносного сосуда (*рисунок 7*). Образование подкожных узелков может быть связано с постоянными инъекциями в одну и ту же анатомическую точку на передней брюшной стенке. Ни у одного пациента за 12 мес терапии ПККИГ не было зарегистрировано местного инфицирования тканей в месте введения препарата.

По результатам оценки количества системных реакций было показано, что за 6 мес терапии ВВИГ их частота составила 12,45% от общего количества инфузий в сравнении с 0,7% в первые 6 мес терапии ПККИГ и 1,23% за 7–12 мес терапии ПККИГ. Системные реакции были зарегистрированы у 39 пациентов на терапии ВВИГ и у 7 пациентов на терапии ПККИГ. Все зафиксированные реакции на терапии ПККИГ не требовали отмены препарата. К числу зарегистри-

Таблица 1
Ожидаемые локальные реакции на терапии ПККИГ

Table 1
The expected local reactions to SCIG

Реакция Reaction	Терапия ПККИГ, количество инфузий (%) Treatment with SCIGs, the number of infusions (%)	
	0–6 мес 0–6 months	7–12 мес 7–12 months
Отсутствие реакции No reaction	1266 (28,2)	1620 (36,9)
Инфильтрация + гиперемия в месте инъекции до 4 ч Infiltration + hyperemia at the injection site for up to 4 hours	1800 (40)	1788 (40,7)
Инфильтрация + гиперемия в месте инъекции от 5 до 12 ч Infiltration + hyperemia at the injection site for 5 to 12 hours	723 (16)	734 (16,7)
Инфильтрация + гиперемия в месте инъекции от 12 ч до нескольких суток Infiltration + hyperemia at the injection site for 12 h to several days	276 (6,1)	168 (3,8)
Зуд Itching	96 (2,1)	–
Нет данных No data	334 (7,4)	73 (1,6)

Рисунок 7
Контактный дерматит от асептических наклеек

Figure 7
Contact dermatitis brought about by aseptic dressing



стрированных системных реакций на терапии ВВИГ и ПККИГ были отнесены лихорадка, головная боль, боль в пояснице, боль в ногах, астения, эметический синдром, судороги, артериальная гипертензия (таблица 2, рисунок 8).

Таким образом, при проведении сравнительной оценки системных реакций на заместительной терапии ВВИГ и ПККИГ было продемонстрировано, что общее количество системных реакций на терапии ПККИГ статистически ниже в сравнении с терапией ВВИГ ($p < 0,001$).

Также в ретроспективной фазе исследования у 1 пациента было зарегистрировано развитие сепсиса, ассоциированного с центральным венозным катетером, вследствие инфицирования порт-системы, установленной для проведения регулярной заместительной терапии ВВИГ.

Применение иммуноглобулина для подкожного введения у пациентов с тромбоцитопенией и кожным синдромом

Особый интерес представляет возможность выполнения подкожных инфузий у пациентов с тромбоцитопенией, которая является нередким осложнением у многих пациентов с ВДИ. В данном исследовании инфузии ПККИГ выполнялись 8 пациентам со стойкой тромбоцитопенией. Спектр диагнозов у пациентов с тромбоцитопенией был следующим: синдром Вискотта–Олдрича ($n = 4$), дефект гена *STAT1* с усилением функции ($n = 2$), дефицит белка LRBA ($n = 1$), комбинированный иммунодефицит неуточненный ($n = 1$). Длительность проведения терапии ПККИГ у пациентов на фоне тромбоцитопении варьировала от 16 до 52 нед. Всего у пациентов с тромбоцитопенией было выполнено

210 инфузий ПККИГ. Медиана количества тромбоцитов в данной группе пациентов составила 39 (3; 139) тыс/мкл. Степень выраженности кожного синдрома коррелировала с количеством тромбоцитов и в большинстве случаев была представлена экхимозами в месте введения, которые разрешались в течение 7–14 дней. У 1 пациента при количестве тромбоцитов 3 тыс/мкл отмечалось развитие гематомы до 4 см в диаметре в месте инъекции ПККИГ (рисунок 9). У 2 пациентов с минимальным количеством тромбоцитов 30 тыс/мкл кожного геморрагического синдрома не отмечалось. Таким образом, исходя из данных результатов, можно предположить, что выполнение инфузии ПККИГ при количестве тромбоцитов более 30 тыс/мкл не сопровождается кожным

Рисунок 8
Частота системных реакций за 6 мес терапии ВВИГ и ПККИГ

* – частота системных реакций на терапии ПККИГ статистически значимо ниже, чем на терапии ВВИГ

Figure 8
Systemic reaction rate during 6 months of treatment with IVIGs and SCIGs
* – systemic reaction rate in the patients treated with SCIGs is significantly lower than that in the IVIG group

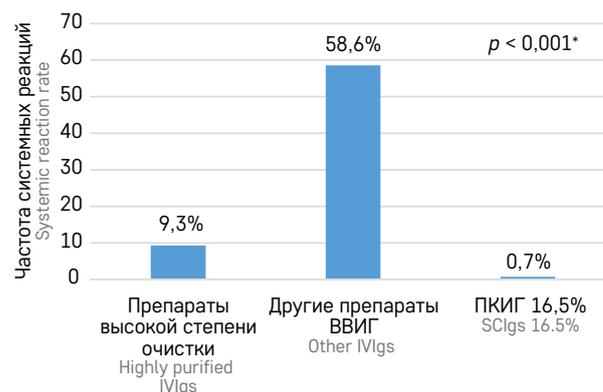


Таблица 2

Общая характеристика системных реакций на терапии ВВИГ и ПККИГ

Table 2

General characteristics of systemic reactions to IVIGs and SCIGs

Реакция Reaction	Препараты ВВИГ высокой степени очистки Highly purified IVIGs	ВВИГ 5% (Китай) IVIGs 5% (China)	Другие препараты ВВИГ Other IVIGs	ПККИГ 16,5% SCIGs 16,5%	
				1–6 мес 1–6 months	7–12 мес 7–12 months
Лихорадка, n (%) Fever, n (%)	33 (4,8)	11 (6,2)	13 (8,5)	1 (0,02)	
Головная боль, n (%) Headache, n (%)	11 (1,6)	1 (0,6)	25 (16,1)	13 (0,31)	47 (1,07)
Боль в пояснице/ногах, n (%) Lower back/leg pain, n (%)		2 (1,0)	25 (16,1)		
Астения, n (%) Asthenia, n (%)	1 (0,1)	1 (0,6)	25 (16,1)		1 (0,02)
Эметический синдром, n (%) Emetic syndrome, n (%)	8 (1,2)	1 (0,6)		15 (0,33)	6 (0,14)
Судороги, n (%) Seizure, n (%)	3 (0,4)				
Артериальная гипертензия, n (%) Arterial hypertension, n (%)	8 (1,2)			1 (0,02)	
Крапивница, n (%) Urticaria, n (%)		6 (3,4)			
Итого, % Total, %	9,3	12,4	56,8	0,7	1,23

геморрагическим синдромом. Однако для формулировки окончательных выводов необходимо проведение исследования на большей выборке пациентов.

В рамках данного исследования было выполнено 134 инфузии ПКИГ 3 пациентам с генерализованным специфическим поражением кожи в рамках синдрома Комеля–Нетертон и 144 инфузии 4 пациентам с течением атопического дерматита средней степени тяжести (2 пациента с гипер-IgE-синдромом, 2 пациента с синдромом Вискотта–Олдрича) (рисунки 9, 10). Ожидаемые местные реакции были представлены инфильтратами в месте введения препарата, которые разрешались в течение 12–24 ч. Таким образом, локальные реакции в этой группе пациентов не отличались от таковых в общей когорте пациентов.

Рисунок 9

Кожный геморрагический синдром у пациентов с тромбоцитопенией: А – количество тромбоцитов 3 тыс/мкл; Б, В – количество тромбоцитов 20–30 тыс/мкл

Figure 9

Bleeding into the skin in the patients with thrombocytopenia: А – platelet count: 3300/mcL; Б, В – platelet count: 20,000–30,000/mcL

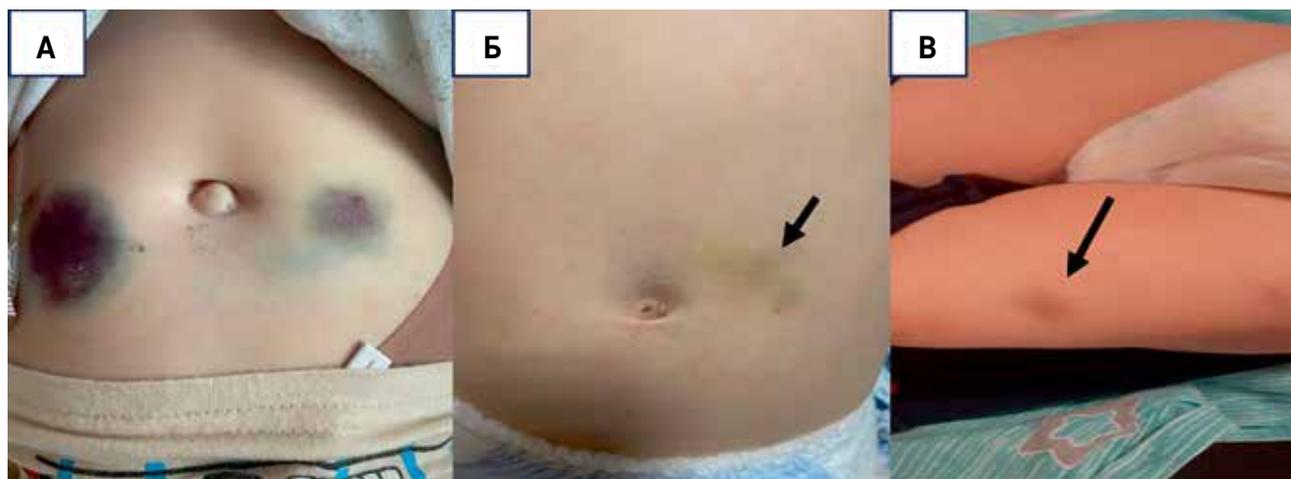


Рисунок 10

Применение ПКИГ у пациентов с синдромом Комеля–Нетертон

Figure 10

SCIg administration in the patients with Comel-Netherton syndrome



ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полученные результаты проведения заместительной терапии ПКИГ 16,5% у пациентов с ВДИ демонстрируют эффективность и безопасность, сравнимые или превышающие таковые при применении ВВИГ.

В изначальной когорте 85,6% пациентов закончили исследование, что говорит о высокой приверженности пациентов терапии ПКИГ и косвенно свидетельствует об удобстве ручного метода выполнения инфузии. Данный метод оказался прост в применении для большинства пациентов и/или их родителей.

Результаты ряда международных исследований демонстрируют, что одним из основных преимуществ ручного метода терапии является более быстрая

скорость инфузии в сравнении с автоматизированным методом введения с помощью помп. Медиана продолжительности введения в нашем исследовании составила 29,72 мин, что сопоставимо с данными литературы [15, 16]. В исследовании Shapiro показано, что из 104 пациентов с медианой возраста 21,1 года 71% предпочли ручной метод инфузии помпам [16].

Эффективность и безопасность заместительной терапии ПКИГ равнозначны при разных способах доставки препарата [15, 17].

По результатам данного исследования на протяжении 12 мес терапии ПКИГ средняя концентрация IgG была около 9 г/л, что достоверно выше в сравнении с ранее проводимой терапией ВВИГ ($p < 0,001$). Аналогичные результаты были продемонстрированы в ряде других исследований [18, 19]. В частности, в исследовании по оценке эффективности и безопасности 20% иммуноглобулина для подкожного введения на российской когорте пациентов с ВДИ, где было показано, что концентрация сывороточного IgG к концу 3-го месяца на терапии ПКИГ составила $8,8 \pm 1,6$ г/л в сравнении с инициальной $7,8 \pm 1,6$ г/л на терапии ВВИГ [10].

Частота инфекционных заболеваний на терапии ПКИГ, равная 0,05 на человека в месяц (0,6 на человека в год), коррелирует и в ряде случаев меньше частоты инфекционных осложнений, проанализированной в других исследованиях. Так, в исследовании Kobayashi и соавт. на протяжении 70 нед применения ПКИГ 16,5% у 75 пациентов детского и взрослого возраста с ВДИ частота инфекционных осложнений составила 3,3 на человека в год (0,27 на человека в месяц) (95% доверительный интервал 2,4–4,5) [19]. В исследовании S.B. Eltan и соавт. у 21 пациента детского возраста с ВДИ частота инфекционных осложнений составила 4 на человека в год (0,34 на человека в месяц), что было достоверно ниже в сравнении с терапией ВВИГ ($p = 0,03$) [20].

Средняя годовая длительность приема антибактериальных препаратов в нашем исследовании (5,5 дня на пациента в год) не превышает или сопоставима со значениями, полученными в других крупных исследованиях [21, 22]. Анализ, проведенный в данной работе, также продемонстрировал снижение среднего количества госпитализаций на человека в месяц в стационар для лечения инфекционных осложнений с 0,04 на терапии ВВИГ до 0,01 на терапии ПКИГ.

Результаты данного исследования демонстрируют высокий профиль безопасности заместительной терапии ПКИГ. Около 70% инфузий ПКИГ на протяжении 12 мес терапии сопровождалось развитием

локальных ожидаемых местных реакций в месте введения препарата, которые купировались самостоятельно и не привели ни в одном случае к отказу от терапии. Развитие ожидаемых местных реакций на терапии ПКИГ напрямую связано с техникой выполнения подкожной инфузии, что показано также в ряде других работ [21–24]. Важно отметить, что нетипичные местные реакции в виде проявлений дерматита в месте инъекции препарата могут являться признаком аллергической реакции на асептические наклейки, что наблюдалось у некоторых пациентов в нашем исследовании.

Значимое снижение частоты системных реакций на терапии ПКИГ (1,93% за 12 мес терапии в сравнении с 12,45% за 6 мес предшествующей терапии ВВИГ) может быть связано с ее фармакокинетическими особенностями. Медленное попадание препарата в кровоток из подкожной жировой клетчатки, распределение суммарной ежемесячной нагрузки биологического препарата на несколько введений способствуют сведению к минимуму числа анафилактических и пирогенных реакций. Низкую частоту системных реакций на терапии ПКИГ в сравнении с ВВИГ демонстрируют ряд других исследований по оценке эффективности и безопасности заместительной терапии ПКИГ [21–25].

Особый интерес в отношении инфузий ПКИГ представляют пациенты с поражением кожи по типу atopического дерматита или специфического генеза в рамках основного заболевания. Наш опыт применения ПКИГ у пациентов с проявлениями atopического дерматита средней степени тяжести, а также у пациентов с синдромом Комеля–Нетертона не отличается по спектру эффективности и безопасности от общей когорты пациентов.

Важной с практической точки зрения является возможность применения ПКИГ у пациентов с тромбоцитопенией разной степени выраженности. По данным литературы, опыт выполнения подкожных инъекций иммуноглобулина у пациентов с ВДИ весьма ограничен. В исследовании V. Pedini и соавт. сообщается о безопасном применении ПКИГ у 3 пациентов старше 18 лет с общей вариабельной иммунной недостаточностью и иммунной тромбоцитопенией [26]. В нашем исследовании показана возможность безопасного проведения терапии ПКИГ у пациентов с медианой тромбоцитов 39 тыс/мкл.

Остается открытым вопрос о возможности безопасного применения ПКИГ у пациентов с нарушением коагуляции. В литературе описан единичный случай применения ПКИГ у пациентки 11 лет с общей вариабельной иммунной недостаточностью и болезнью Виллебранда [27].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Реализация данного исследования демонстрирует возможность практически единовременного перехода с терапии ВВИГ на терапию ПКИГ с использованием ручного метода инфузии на большой разнородной группе пациентов на территории РФ. Полученные результаты демонстрируют эффективность и безопасность заместительной терапии ПКИГ с использованием ручного метода инфузии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор статьи подтвердил отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Avedova A.Ya. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9399-6534>

Rodina Yu.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9857-4456>

Yukhacheva D.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9078-8206>

Burlakov V.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1267-9957>

Deripapa E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9083-4783>

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

Литература / References

- Щербина А.Ю. Маски первичных иммунодефицитных состояний: проблемы диагностики и терапии. *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2016; 1 (3): 52–8. DOI: 10.17650/2311-1267-2016-3-1-52-58 [Shcherbina A.Yu. Masks of primary immunodeficiency disorders: diagnostic and therapeutic problems. *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology* 2016; 3 (1): 52–8. (In Russ.)].
- Tangye S., Al-Herz W., Bousfiha A., Cunningham-Rundles Ch., Luis Franco J., Holland S., et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2022 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2022; 42 (7): 1473–507. DOI: 10.1007/s10875-022-01289-3
- Peter J., Chapel H. Immunoglobulin replacement therapy for primary immunodeficiencies. *Immunotherapy* 2014; 6 (7): 853–69. DOI: 10.2217/imt.14.54
- Bruton O.C. Agammaglobulinemia. *Pediatrics* 1952; 9 (6): 722–8.
- Stiehm E.R. Adverse effects of human immunoglobulin therapy. *Trans Med Rev* 2013; 27 (3): 171–8.
- Perraudin C., Bourdin A., Spertini F., Berger J., Bugnon O. Switching patients to home-based subcutaneous immunoglobulin: an economic evaluation of an interprofessional drug therapy management program. *J Clin Immunol* 2016; 36 (5): 502–10.
- Shapiro R. Subcutaneous immunoglobulin (16 or 20%) therapy in obese patients with primary immunodeficiency: a retrospective analysis of administration by infusion pump or subcutaneous rapid push. *Clin Exp Immunol* 2013; 173 (2): 365–71.
- Latysheva E., Rodina Y., Sizyankina L., Totolian A., Tuzankina I. Efficacy and safety of octanorm (cutaquin®) in adults with primary immunodeficiencies with predominant antibody deficiency: a prospective, open-label study. *Immunotherapy* 2020; 2 (5): 299–309.
- Borte M., Kriván G., Derfalvi B., Maródi L., Harrer T., Jolles S., et al. Efficacy, safety, tolerability and pharmacokinetics of a novel human immune globulin subcutaneous, 20%: a phase 2/3 study in Europe in patients with primary immunodeficiencies. *Clin Exp Immunol* 2016; 187 (1): 146–59.
- Аведова А.Я., Родина Ю.А., Юхачева Д.В., Бурлаков В.И., Дери-папа Е.В., Щербина А.Ю. Опыт применения иммуноглобулина для подкожного введения Хайцентра у пациентов с первичными иммунодефицитами. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2023; 22 (2): 92–7. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-2-92-97 [Avedova A.Ya., Rodina Yu.A., Yukhacheva D.V., Burlakov V.I., Deripapa E.V., Shcherbina A.Yu. Experience with the use of Hizentra, an immunoglobulin preparation for subcutaneous administration, in patients with primary immunodeficiency diseases. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2023; 22 (2): 92–7. (In Russ.)].
- Смирнова И.Н., Родина Ю.А., Дери-папа Е.В., Роппельт А.А., Лаб-ерко А.Л., Косачева Т.Г. и др. Фар-макоэкономический анализ заме-стительной терапии внутривенным иммуноглобулином у пациентов с первичными дефектами гумораль-ного звена иммунитета. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2016; 15 (1): 66–71. DOI: 10.24287/1726-1708-2016-15-1-66-71 [Smirnova I.N., Rodina Yu.A., Deripapa E.V., Rop-pelt A.A., Laberko A.L., Kosa-cheva T.G., et al. Pharmacoeconomic analysis of intravenous immunoglobulin replacement therapy in patients with primary humoral immunode-ficiencies. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2016; 15 (1): 66–71. (In Russ.)].
- Мухина А.А., Абрамова И.Н., Кузь-менко Н.Б., Родина Ю.А., Латы-шева Т.В., Латышева Е.А. и др. Заместительная терапия препа-ратами иммуноглобулинов у паци-ентов с первичными иммунодефи-цитами в Российской Федерации. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2020; 19 (4 приложение): 18–29. DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-4suppl-18-29 [Mukhina A.A., Abramova I.N., Kuzmenko N.V., Rodina Yu.A., Latysheva T.V., Lat-ysheva E.A., et al. Immunoglobulin replacement therapy in patients with primary immunodeficiency dis-eases in Russia. *Pediatric Hematol-ogy/Oncology and Immunopathology* 2020; 19 (4 suppl): 18–29. (In Russ.)].
- Bousfiha A., Jeddane L., Picard C., Ailal F., Bobby Gaspar H., Al-Herz W.,

- et al. The 2017 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies. *J Clin Immunol* 2018; 38 (1): 129–43.
14. Аведова А.Я., Дерипапа Е.В., Родина Ю.А., Мухина А.А., Латышева Е.А., Юхачева Д.В. и др. Оценка качества жизни пациентов на фоне заместительной терапии иммуноглобулином для подкожного введения 16,5% у пациентов с врожденным дефектом иммунной системы: результаты мультицентрового проспективного исследования. *Российский аллергологический журнал. Принята в печать.* [Avedova A.Ya., Deripapa E.V., Rodina Yu.A., Mukhina A.A., Latsheva E.A., Yukhacheva D.V. et al. Quality of life assessment during replacement therapy with subcutaneous immunoglobulin 16.5% in patients with inborn errors of immunity: the results of a multicenter prospective study. *Russian Journal of Allergy. Accepted for publication.* (In Russ.).]
 15. Shapiro R.S. Subcutaneous immunoglobulin: rapid push vs. infusion pump in pediatrics. *Pediatr Allergy Immunol* 2013; 24 (1): 49–53. DOI: 10.1111/pai.12026
 16. Shapiro R. Subcutaneous immunoglobulin therapy by rapid push is preferred to infusion by pump: a retrospective analysis. *J Clin Immunol* 2010; 30 (2): 301–7. DOI: 10.1007/s10875-009-9352-2
 17. Cowan J., Bonagura V.R., Lugar P.L., Maglione P.J., Patel N.C., Vinh D.C. Safety and Tolerability of Manual Push Administration of Subcutaneous IgPro20 at High Infusion Rates in Patients with Primary Immunodeficiency: Findings from the Manual Push Administration Cohort of the HILLO Study. *J Clin Immunol* 2021; 41 (1): 66–75. DOI: 10.1007/s10875-020-00876-6
 18. Berger M., Rojavin M., Kiessling P., Zenker O. Pharmacokinetics of subcutaneous immunoglobulin and their use in dosing of replacement therapy in patients with primary immunodeficiencies. *Clin Immunol* 2011; 139 (2): 133–41. DOI: 10.1016/j.clim.2011.01.006
 19. Kobayashi R.H., Litzman J., Melamed I., Mandujano J.F., Kobayashi A.L., Ritchie B., et al. Long-term efficacy, safety, and tolerability of a subcutaneous immunoglobulin 16.5% (cutaquist®) in the treatment of patients with primary immunodeficiencies. *Clin Exp Immunol* 2022; 210 (2): 91–103. DOI: 10.1093/cei/uxac092
 20. Eltan S.B., Keskin O., Devci M.F. Safety, efficiency, and treatment satisfaction in children with primary immunodeficiency receiving subcutaneous immunoglobulin treatment. *North Clin Istanb* 2022; 9 (3): 228–34. DOI: 10.14744/nci.2020.16870
 21. Gupta S., DeAngelo J., Melamed I., Walter J.E., Kobayashi A., Bridges T., et al. Subcutaneous Immunoglobulin 16.5% (Cutaquist®) in Primary Immunodeficiency Disease: Safety, Tolerability, Efficacy, and Patient Experience with Enhanced Infusion Regimens. *J Clin Immunol* 2023; 43 (6): 1414–25.
 22. Kobayashi R.H., Gupta S., Melamed I., Mandujano J.F., Kobayashi A.L., Ritchie B., et al. Clinical Efficacy, Safety and Tolerability of a New Subcutaneous Immunoglobulin 16.5% (Octanorm [Cutaquist®]) in the Treatment of Patients With Primary Immunodeficiencies. *Front Immunol* 2019; 10: 40. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00040
 23. Vultaggio A., Azzari C., Milito C., Finocchi A., Toppino C., Spadaro G., et al. Subcutaneous immunoglobulin replacement therapy in patients with primary immunodeficiency in routine clinical practice: the VISPO prospective multicenter study. *Clin Drug Investig* 2015; 35 (3): 179–85. doi: 10.1007/s40261-015-0270-1
 24. Patel N.C., Gallagher J.L., Ochs H.D., Atkinson T.P., Wahlstrom J., Dorsey M., et al. Subcutaneous Immunoglobulin Replacement Therapy with Hizentra® is Safe and Effective in Children Less Than 5 Years of Age. *J Clin Immunol* 2015; 35 (6): 558–65. DOI: 10.1007/s10875-015-0190-0
 25. Suez B., Kriván G., Jolles S., Stein M., Gupta S., Paris K., et al. Safety and tolerability of subcutaneous immunoglobulin 20% in primary immunodeficiency diseases from two continents. *Immunotherapy* 2019; 11 (12): 1057–65. DOI: 10.2217/imt-2019-0057
 26. Pardini V., Savore I., Danieli M.G. Facilitated Subcutaneous Immunoglobulin (fSCIg) in Autoimmune Cytopenias Associated with Common Variable Immunodeficiency. *Isr Med Assoc J* 2017; 19 (7): 420–3.
 27. Arora R., Newton T.C., Nelson M.R. Subcutaneous immunoglobulin therapy in an 11-year-old patient with common variable immunodeficiency and von Willebrand disease. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2007; 99 (4): 367–70.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица 1
Спектр клинических диагнозов

Table 1
A spectrum of clinical diagnoses

Диагноз Diagnosis	Число пациентов The number of the patients
1	2
Комбинированные иммунодефициты, ассоциированные с синдромальной патологией Combined immunodeficiencies associated with syndromic features	
Синдром Вискотта–Олдрича Wiskott–Aldrich syndrome	6
Синдром Луи–Бар Louis–Barr syndrome	18
Дефицит лигазы 4 Ligase IV deficiency	1
Синдром Ниймеген Nijmegen syndrome	2
Синдром лицевых аномалий и хромосомной нестабильности Facial anomalies and chromosomal instability syndrome	1
Синдром ДиДжорджи DiGeorge syndrome	23
Синдром Якобсена Jacobsen syndrome	2
Синдром Мак–Кьюсика McKusick syndrome	2
Иммунокостная дисплазия Шимке Schimke immuno-osseous dysplasia	5
Гипер-IgE-синдром Hyper IgE syndrome	7
Синдром Комеля–Нетертона Comel–Netherton syndrome	3
Синдром Кабуки Kabuki syndrome	7
Синдром Ройфмана Roifman syndrome	1
Синдром Дауна Down syndrome	1
Первичные иммунодефициты (ПИД) с преимущественным дефицитом антител Primary immunodeficiencies (PIDs) with predominantly antibody deficiency	
X-сцепленная агаммаглобулинемия X-linked agammaglobulinemia	44
Общая переменная иммунная недостаточность Common variable immunodeficiency	20
Синдром активации фосфоинозитид-3-киназы дельта (PI3Kδ) Activated phosphoinositide 3-kinase delta (PI3Kδ) syndrome	7
ПИД с иммунной дисрегуляцией PIDs with immune dysregulation	
APCED*	6
Галлодефицитность гена <i>CTLA4</i> <i>CTLA4</i> haploinsufficiency	4
Дефицит белка LRBA LRBA deficiency	4
Дефект гена <i>STAT3</i> с усилением функции <i>STAT3</i> gain-of-function disorder	1
Аутоиммунный лимфопролиферативный синдром Autoimmune lymphoproliferative syndrome	1
ВДИ Inborn errors of immunity	
Дефект гена <i>STAT1</i> с усилением функции <i>STAT1</i> gain-of-function disorder	7
Дефект гена <i>NBAS</i> <i>NBAS</i> gene mutation	3
Аутовоспалительные заболевания Autoinflammatory diseases	
Дефицит белка ADA2 ADA2 deficiency	2

1	2
APLAID**	2
Дефект гена <i>TRNT1</i> <i>TRNT1</i> gene mutation	1
ПИД с дефектом клеточного и гуморального иммунитета PIDs affecting cellular and humoral immunity	
Гипер-IgM-синдром Hyper IgM syndrome	4
Дефицит белка DOCK8 DOCK8 deficiency	2
Комбинированный иммунодефицит без уточненного генетического дефекта Combined immunodeficiency without a specified gene defect	46

Рисунок 1
Распределение пациентов с врожденными дефектами иммунитета (ВДИ) по возрастам

Figure 1
Age distribution of the patients with inborn errors of immunity

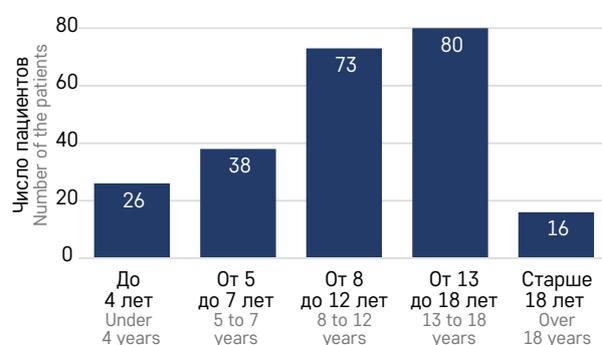


Рисунок 2
Анатомические области для инъекции ПККИГ

Figure 2
Anatomic sites for subcutaneous immunoglobulin (SCIG) injection

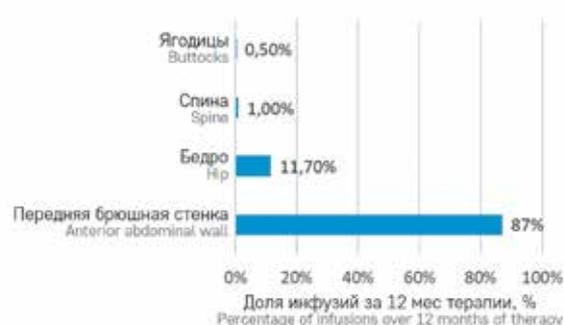


Таблица 2
Общая характеристика инфузий ПККИГ

Table 2
General characteristics of SCIG infusions

Характеристика Characteristic	Терапия ПККИГ Treatment with SCIGs	
	1–6 мес 1–6 months	7–12 мес 7–12 months
Разовая дозировка, г/кг Single dose, g/kg	0,14 (0,05; 0,33)	0,15 (0,1; 0,4)
Разовый объем, мл Single injection volume, ml	17,12 (6; 48)	17,68 (4,5; 60)
Продолжительность введения, мин Duration of infusion, min	31,78 (6; 120)	27,67 (2; 120)

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-131-137

Особенности генетического разнообразия у пациентов детского возраста с врожденными дефектами иммунитета в России

Н.Б. Кузьменко, М.А. Алексенко, А.А. Мухина, Ю.А. Родина, М.С. Фадеева, Д.Е. Першин, А.М. Киева, Т.В. Варламова, Д.В. Юхачева, В.И. Бурлаков, Н.Ю. Кан, Е.В. Дерипапа, А.Л. Козлова, З.А. Нестеренко, А.Я. Аведова, А.А. Моисеева, Е.А. Деордиева, О.А. Швец, Е.А. Викторова, В.О. Блудова, А.Л. Огнева, Д.В. Богданова, И.В. Мерсиянова, Е.В. Райкина, М.А. Масчан, Г.А. Новичкова, Н.С. Грачёв, А.Ю. Щербина

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

На сегодняшний день известно около 500 генетических дефектов, обуславливающих клинические проявления иммунодефицитных состояний. Молекулярно-генетический диагноз необходим для определения тактики ведения пациента с врожденными дефектами иммунитета (ВДИ) и играет важную роль в семейном генетическом консультировании. В целях поиска генетической причины ВДИ были обследованы 2395 пробандов, из них у 1507 (65,7%) идентифицированы 164 нозологические формы ВДИ с дефектами в 143 уникальных генах и полонками 8 хромосом. Подавляющая часть ВДИ (89,1%) представлена моногенными повреждениями, из которых 98,6% имели герминальное происхождение. ВДИ вследствие крупных хромосомных поломок развили 10,6% пробандов. Наиболее часто встречающиеся моногенные формы ВДИ с подтвержденным генетическим дефектом представлены синдромом Вискотта–Олдрича, X-сцепленной хронической гранулематозной болезнью, X-сцепленной агаммаглобулинемией, синдромом Ниймеген, наследственным ангионевротическим отеком 1-го и 2-го типов, синдромом Луи–Бар, синдромом Швахмана–Даймонда, тяжелой врожденной нейтропенией, X-сцепленной тяжелой комбинированной иммунной недостаточностью. Среди иммунодефицитов с хромосомными поломками преобладает синдром del22.q11.2 (синдром ДиДжорджи). Эти 10 нозологических форм ВДИ отмечены у 51% (775/1507) всех наблюдаемых пробандов с подтвержденным генетическим диагнозом. Особый интерес представляют 6,4% (96/1507) пробандов с уникальными случаями ВДИ, обнаруженными у 1–2 пациентов и представленными 80 различными нозологическими формами с поломками в 73 генах и 6 хромосомах. Среди них преобладают ВДИ с аутосомно-рецессивным типом наследования (65%), еще 30% наследуются аутосомно-доминантным путем и лишь 5% – X-сцепленным. Кроме того, у 0,3% пробандов выявлены полигенные причины ВДИ, у 0,9% пробандов к ВДИ привели соматические повреждения известных генов (*NRAS*, *KRAS*, *FAS*, *NLRP3*). Частота семейных случаев среди пробандов с подтвержденным генетическим диагнозом составила 9,6% (145/1507). Понимание механизмов возникновения и наследования ВДИ в гетерогенной российской популяции окажет важную роль в разработке диагностических и терапевтических стратегий для пациентов и их семей. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Информированное согласие на генетическое обследование и публикацию результатов было получено от пациентов и/или хотя бы одного из родителей детей, не достигших возраста согласия.

Ключевые слова: врожденные дефекты иммунитета, генетическая диагностика, «эффект основателя», «горячие» точки мутагенеза, иммунодефицит

Кузьменко Н.Б. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 131–7. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-131-137

Genetic diversity in pediatric patients with inborn errors of immunity in Russia

N.B. Kuzmenko, M.A. Alexenko, A.A. Mukhina, Yu.A. Rodina, M.S. Fadeeva, D.E. Pershin, A.M. Kiev, T.V. Varlamova, D.V. Yuhacheva, V.I. Burlakov, N.Yu. Kan, E.V. Deripapa, A.L. Kozlova, Z.A. Nesterenko, A.Ya. Avedova, A.A. Moiseeva, E.A. Deordieva, O.A. Shvets, E.A. Viktorova, V.O. Bludova, A.L. Ogneva, D.V. Bogdanova, I.V. Mersyanova, E.V. Raykina, M.A. Maschan, G.A. Novichkova, N.S. Grachev, A.Yu. Shcherbina

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

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 10.09.2024
Принята к печати 09.10.2024



EDN: REJZPK

Контактная информация:

Кузьменко Наталья Борисовна, канд. мед. наук, заведующая отделом эпидемиологии и мониторинга иммунодефицитов, врач-аллерголог-иммунолог консультативного отделения ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: plunge@list.ru

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 10.09.2024
Accepted 09.10.2024

Correspondence:

Natalia B. Kuzmenko,
Cand. Med. Sci., Head of the Department of
Epidemiology and Monitoring
of Immunodeficiencies,
an allergist-immunologist at the Outpatient
Department, Dmitry Rogachev National
Medical Research Center of Pediatric
Hematology, Oncology and Immunology,
Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
117997, Moscow, Russia
E-mail: plunge@list.ru

To date, about 500 genetic defects are known to cause clinical manifestations of immunodeficiency. Genetic diagnosis is necessary to guide the management of patients with inborn errors of immunity (IEI) and plays an important role in genetic counselling of families. To find the genetic cause of IEI, 2395 probands were tested, in 1507 (65.7%) of them we identified 164 forms of IEI with defects in 143 single genes and abnormalities in 8 chromosomes. The majority of IEIs (89.1%) were monogenic, with 98.6% of them being of germline origin. Only 10.6% of IEIs were due to large chromosomal breaks. The most common monogenic forms of IEI with a confirmed genetic defect are Wiskott-Aldrich syndrome, X-linked chronic granulomatous disease, X-linked agammaglobulinemia, Nijmegen syndrome, hereditary angioedema types 1 and 2, ataxia-telangiectasia, Schwachman-Diamond syndrome, severe congenital neutropenia, X-linked severe combined immunodeficiency. Among IEIs associated with chromosomal abnormalities, del22.q11.2 syndrome (DiGeorge syndrome) predominates. These 10 forms of IEI were detected in 51% (775/1507) of all the probands with a confirmed genetic diagnosis. In our study, 6.4% (96/1507) of the probands had unique IEIs: a total of 80 different IEI entities associated with defects in 73 genes and 6 chromosomes (each entity affecting 1 or 2 patients). The majority of them were autosomal recessive IEIs (65%), 30% were autosomal dominant, and only 5% of the cases were X-linked. In addition, polygenic IEIs were identified in 0.3% of the probands and somatic mutations in well-known genes (*NRAS*, *KRAS*, *FAS*, *NLRP3*) led to IEI in 0.9% of the probands. The frequency of familial cases among the probands with a confirmed genetic diagnosis was 9.6% (145/1507). Understanding the mechanisms of occurrence and inheritance of IEI in the heterogeneous Russian population will play an important role in the development of diagnostic and therapeutic strategies for patients and their families. 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. Informed consent for genetic testing and for the publication of its results was obtained from the patients and/or from at least one parent of a child under the age of consent.

Key words: inborn errors of immunity, genetic diagnosis, "founder effect", "hot" spots of mutagenesis, immunodeficiency

Kuzmenko N.B., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 131–7.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-131-137

Врожденные дефекты иммунитета (ВДИ) – гетерогенная группа заболеваний иммунной системы с широким спектром клинических проявлений [1, 2]. Для успешного лечения пациентов с ВДИ необходим точный молекулярно-генетический диагноз [3].

Большинство ВДИ являются моногенными и наследуются по одному из трех путей: аутосомно-рецессивному (АР), X-сцепленному рецессивному (X-сцепленный) или аутосомно-доминантному (АД). Однако их соотношение в различных популяциях варьирует. В крупных европейских и американском регистрах ВДИ среди генетически подтвержденных случаев доминируют заболевания с X-сцепленным типом наследования, с АД типом (синдром делеции 22q11.2 и дефекты гена *SERPING1*), а также с АР типом с дефектом гена *ATM* [4–6]. На Ближнем Востоке и в Северной Африке высокая частота АР ВДИ объясняется распространенностью родственных браков в этих регионах [7]. Известно также, что на распространенность некоторых форм ВДИ влияет «эффekt основателя» [8, 9].

Молекулярно-генетический диагноз открывает возможности для семейного генетического консультирования, пренатальной и преимплантационной диагностики в семьях, где встречались пациенты с диагнозом ВДИ [3].

Доступность современных методов генетической диагностики для пациентов с ВДИ в России позволяет не только подтвердить конкретную форму иммунодефицита и скорректировать тактику ведения пациента, но и получить представление о разнообразии генетических повреждений среди этнически гетерогенного населения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В статье представлен анализ 2395 пробандов в возрасте от 0 до 18 лет с диагнозом ВДИ, постав-

ленным на основании критериев Европейского общества иммунодефицитов (European Society for Immunodeficiencies) [10], которые наблюдались в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в период с 2012 по 2024 г. В основной анализ были включены только результаты обследования пробандов, у которых обнаружены молекулярно-генетические дефекты (1507 детей, медиана возраста 4 (0–18) года).

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Информированное согласие на генетическое обследование и публикацию результатов было получено от пациентов и/или хотя бы одного из родителей детей, не достигших возраста согласия.

Генетическое тестирование

Геномную ДНК выделяли из цельной крови с использованием стандартных протоколов. Поиск генетических вариантов осуществляли различными методами высокопроизводительного секвенирования (next generation sequencing, NGS): полногеномное секвенирование (whole genome sequencing), полноэкзомное секвенирование (whole exome sequencing), а также таргетные панели генов, разработанные специально для диагностики ВДИ. Подтверждение выявленных с помощью NGS генетических вариантов, генетическое обследование родственников пациентов, а также секвенирование генов-кандидатов у некоторых пациентов с типичным фенотипом определенных ВДИ проводили методом прямого секвенирования по Сэнгеру.

Для выявления протяженных делеций и дупликаций использовали метод мультиплексной лигазозависимой амплификации проб (multiplex ligation-dependent probe amplification) с использованием наборов производства MRC Holland

(Нидерланды). Для поиска крупных хромосомных перестроек применяли метод сравнительной геномной гибридизации (array comparative genomic hybridization) или флуоресцентную гибридизацию *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization).

Статистический анализ

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения XLSTAT (Addinsoft).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

За период с 2012 по 2024 г. молекулярно-генетическое исследование в целях обнаружения генетической причины было проведено 2395 пробандам, отвечающим клиническим критериям диагноза ВДИ [10]. Генетическую причину заболевания удалось выявить у 65,7% (1507/2395) обследованных пробандов, разнообразие нозологических форм которых представлено 164 различными ВДИ с дефектами в 143 генах и поломками 8 хромосом.

Соотношение по полу – 2:1 (1012 мальчиков и 495 девочек).

Моногенные повреждения стали причиной ВДИ у 89,1% (1343/1507) детей, 98,6% (1330/1349) из них имели герминальное происхождение, 0,9% (13/1343) – соматическое. Еще 10,6% (160/1507) пациентов развили ВДИ вследствие крупных хромосомных поломок, преимущественно за счет del22q11.2 (таблица).

Из 1330 человек с герминальными мутациями в 138 генах 41% ($n = 545$) подтвердили ВДИ с AP типом наследования и мутациями в 84 генах, 30% ($n = 396$) – с АД типом наследования и дефектами в 46 генах, 29% ($n = 389$) – с X-сцепленным типом наследования и мутациями в 13 генах.

Таблица

Результаты анализа генетических причин ВДИ в группе пациентов детского возраста

Table

The results of analysis of genetic causes of inborn errors of immunity (IEI) in the pediatric cohort

Параметр Parameter	Число пробандов, n (%) Number of probands, n (%)
Проведено генетическое обследование Genetic testing was performed	2395 (100,0)
Обнаружен генетический дефект Genetic defect was detected	1507 (65,7)
Моногенные ПИД: Monogenic PID: герминальные germinal соматические somatic	1343 (89,1)
	1330
	13
Хромосомные поломки Chromosomal breaks	160 (10,6)
Ди-/полигенные причины ПИД Digenic/polygenic causes of PID	4 (0,3)

Примечание. ПИД – первичные иммунодефициты.
Note. PID – primary immunodeficiency.

Среди 545 пробандов с AP типом наследования и дефектами в 84 генах 46% ($n = 250$) страдают синдромом Ниймеген с известной славянской мутацией в гене *NBN* (частота аллеля с.657_661delACAAA 100%), семейной средиземноморской лихорадкой с частотой аллеля M694V в гене *MEFV* 67%, синдромом Швахмана–Даймонда и синдромом аутоиммунной полиэндокринопатии, кандидиазом и эктодермальной дистрофией (APECED-синдромом) с «горячими» точками мутагенеза в генах *SBDS* (частота аллелей с вариантами с.258+2T>C – 54% и с.183_184delTAinsCT – 41%) и *AIRE* (частота аллеля R257* 72%) соответственно.

Также важно отметить, что патогенные варианты в некоторых генах, таких как *WAS*, *STAT1*, *STAT2*, *STAT3*, приводили к разным фенотипам ВДИ в зависимости от повреждающего механизма (потеря функции белка (loss-of-function), доминантно-негативный эффект (dominant-negative), активирующая мутация (gain-of-function)).

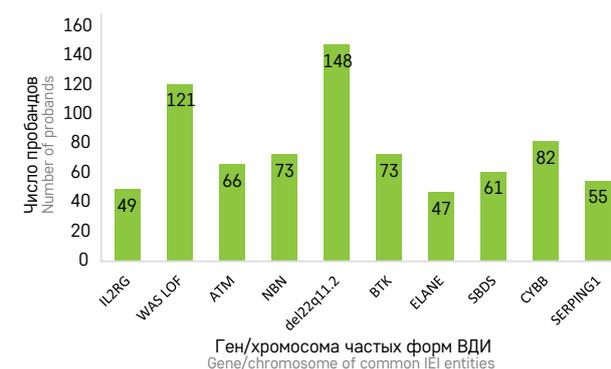
Наиболее многочисленными группами детей с генетическим диагнозом составили пробанды с хорошо описанными ВДИ: синдромом Вискотта–Олдрича, X-сцепленной хронической гранулематозной болезнью, X-сцепленной агаммаглобулинемией, синдромом Ниймеген, наследственным ангионевротическим отеком 1-го и 2-го типов, синдромом Луи–Бар (атаксия-телеангиэктазия), синдромом Швахмана–Даймонда, X-сцепленной формой тяжелой комбинированной иммунной недостаточности и дефектами в генах *WAS*, *CYBB*, *BTK*, *NBN*, *SERPING1*, *ATM*, *SBDS*, *ELANE*, *IL2RG* соответственно. Также большое число пробандов (144 ребенка) с клиническими проявлениями синдрома Диджорджи обнаружили del22q11.2, лишь в 4 случаях причиной болезни стала нуклеотидная замена в гене *TBX1*. Эти 10 нозологических форм ВДИ встречаются у 51% (775/1507) всех наблюдаемых пробандов с подтвержденным генетическим диагнозом (рисунки 1).

Рисунок 1

Часто встречающиеся ВДИ (число пробандов с одной нозологической формой ВДИ)

Figure 1

Common IEIs (the number of probands with one IEI entity)



Особого внимания заслуживают уникальные моногенные формы ВДИ, которые были выявлены у 1 или 2 пациентов в популяции. При этом такие крайне редкие состояния представлены 80 нозологическими формами у 96/1507 (6,4%) детей, среди которых 73 моногенных ВДИ у 89 пробандов и 7 ВДИ, причиной которых стали хромосомные aberrации в 6 хромосомах. Распределение уникальных нозологических форм по группам в соответствии с современной классификацией ВДИ представлено на рисунке 2. Среди уникальных моногенных форм преобладают ВДИ с AP типом наследования 65% (58/89). Еще 30% (27/89) уникальных форм ВДИ наследуются АД путем и лишь 5% (4/89) – X-сцепленным.

Пробанды с вариантами в нескольких генах/хромосомах

У 3 пробандов к фенотипу иммунодефицита привели дефекты в нескольких генах: у одной пациентки сочетание биаллельных патогенных вариантов в генах *ATM* и *NFKB1*, у другого пробанда – в генах *MVK* и *MEFV*. У девочки с протеасом-ассоциированным синдромом 1-го типа (proteasome-associated autoinflammatory syndrome-1) повреждающие варианты были обнаружены в 3 генах, кодирующих различные субъединицы протеасомы, *PSMB8*, *PSMA5*, *PSMC5*, которые составляют 1 мультибелковый комплекс. У 1 пациента с подтвержденным методом хромосомного микроматричного анализа (ХМА) синдромом del22q11.2 и клиническими проявлениями аутовоспалительного заболевания был выявлен соматический вариант в гене *NLRP3*.

Рисунок 2

Распределение пациентов по группам в соответствии с классификацией ВДИ уникальных моногенных и хромосомных нозологических форм

Figure 2

The distribution of the patients into the groups according to the IEL classification of unique monogenic and chromosomal entities



Пробанды с хромосомными aberrациями

Делеция del22q11.2 стала причиной синдрома ДиДжорджи у 144 детей. У 9 пробандов подтвержден синдром Якобсен с терминальной делецией 11-й хромосомы, у 1 из которых помимо del11q24.2q5 были обнаружены 2 микродупликации: 16p.13.11 и 22q13.31q13.33. У 1 пациентки выявлен синдром ДиДжорджи 2, причиной которого стала делеция короткого плеча 10-й хромосомы. Еще у 6 детей с синдромальной патологией, клиническими и лабораторными признаками иммунодефицита выявлены различные aberrации 4, 7, 18, 19 и 21-й хромосом, не включенные на сегодняшний день в классификацию ВДИ.

У 6 пробандов микроделеция включала ген (*CTLA4*, *NFKB1*) или в составе компаунд-гетерозиготы – часть известного гена ВДИ (*NBAS*, *DCLRE1C*). У 4 детей имел место комплексный фенотип, когда мутация в известном гене ВДИ (*BTK*, *CYBB*, *STAT1 GOF*, *ATM*) сочеталась с каким-либо хромосомным дефектом, не имеющим отношения к проявлениям иммунодефицита. В 1 случае гомозиготное повреждение гена *USB1* было подтверждено обнаружением однородительской дисомии хромосомы 16.

Семейные случаи

В процессе сегрегационного анализа у 145 пробандов с 47 различными формами ВДИ выявлен хотя бы один родственник с тем же диагнозом (семейный случай). При этом 114 пробандов имели больных родственников детского возраста (сиблинги, двоюродные братья, дяди по материнской линии). У 43 пробандов как минимум 1 взрослый родственник с клиническими

проявлениями ВДИ подтвердил тот же генетический дефект. В 12 семьях были обнаружены и больные сиблинги и пациенты с ВДИ взрослого возраста. Частота семейных случаев среди пробандов с подтвержденным генетическим диагнозом составила 9,6% (145/1507).

Пренатальная и преимплантационная диагностика

В 69 семьях пациентов с ВДИ было проведено 75 инвазивных исследований эмбрионов (диагностика ворсин хориона или амниотической жидкости). В 15/75 (20%) случаях были обнаружены патогенные варианты, ранее выявленные в семьях. Из 15 беременностей 14 было прервано по желанию родителей. В 12/75 (16%) случаях у плода обнаружено носительство, 48/75 (64%) не имели патогенных вариантов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В наблюдаемой нами когорте детей у 65,7% был подтвержден генетический диагноз. Этот показатель сравним со средней выявляемостью причинно-значимых вариантов среди пациентов с ВДИ в других популяциях и опубликованными нами ранее данными на меньших выборках пациентов с ВДИ [11, 12]. Так, среди 1061 пациента, которым проводилось генетическое обследование в Германии, диагноз подтвержден у 84% [5]. Из 3405 пациентов французского регистра генетические причины обнаружены у 83,9% пациентов [4]. Среди 206 генетически обследованных пациентов Кувейта преимущественно детского возраста – у 70% [13]. Однако в исследованиях, проведенных в Индии, ЮАР, Австралии и др., пациенты с ВДИ с подтвержденным генетическим диагнозом составляют менее 25% от общего числа пациентов с ВДИ [4, 7, 14]. Сравнение этих данных представляет собой сложную задачу, поскольку исследуемые группы различаются по многим параметрам, в первую очередь важны распределение по возрасту и критерии включения в молекулярно-генетический поиск. Однако большинство исследователей указывают, что генетические диагнозы в основном верифицируются у детей [4]. Кроме того, многие регистры включают данные пациентов, обследованных до эпохи NGS.

В нашей когорте наибольшие группы пробандов с подтвержденными генетическими диагнозами были представлены синдромом Диджорджи, синдромом Вискотта–Олдрича, X-сцепленной агаммаглобулинемией, синдромом Луи–Бар (атаксия-телеангиэктазия) и наследственным ангионевротическим отеком 1-го и 2-го типов, что согласуется с данными, ранее опубликованными в различных европейских и американских

исследованиях [4–6]. Вероятно, высокая частота дефектов этих генов в российской когорте представляет собой не истинную частоту заболеваний, а общую осведомленность об этих хорошо известных «старых» ВДИ.

Уникальные моногенные формы ВДИ (1–2 пациента с дефектами в одном гене) встречаются у 6,4% наблюдаемых детей и представлены высоким разнообразием генетических дефектов (73/143 различных гена, что составляет чуть более половины всех представленных уникальных генов), которые можно было идентифицировать только благодаря внедрению методов NGS в последние годы.

Кроме нозологических форм, представленных в современной классификации ВДИ [1], были обнаружены 6 хромосомных повреждений (4q34.1–q35.2, del7q11.23, del18p11, del18p11.32–p11.21, 19q13.12–q13.11, моносомия хромосомы 21) и варианты в 11 генах (*DNASE1*, *COPZ1*, *MRE11*, *MAP2K*, *XRCC4*, *MPO*, *EP300*, *KNG*, *ALPK1*, *RAD50*, *MYOF*), которые в настоящее время не включены в классификацию. Некоторые из этих редких клинических случаев ранее были опубликованы нами [14–16]. Такие редкие расстройства требуют дальнейшего изучения и возможного включения в классификацию ВДИ.

Исторически сложилось так, что дефекты в генах ВДИ ассоциировались с моногенной зародышевой линией, преимущественно с точечными повреждающими вариантами [17–20]. С развитием генетических методов мы накопили больше данных о других генетических причинах ВДИ. В нашей когорте крупные хромосомные дефекты были выявлены у 160 детей. Кроме того, мы описали пациентов с полигенными дефектами, а также комбинированный фенотип ВДИ у мальчика с del22q11.2 и соматическим вариантом в гене *NLRP3*. Эти данные важно учитывать при выборе методов генетического тестирования, особенно у пациентов со сложными фенотипами.

В отличие от стран Ближнего Востока и Северной Африки, где лидируют ВДИ с AP типом наследования преимущественно с гомозиготными вариантами в силу высокой распространенности близкородственных браков [13, 21], среди нашей когорты пробандов с данным типом наследования доминируют (41% среди всех моногенных форм) группы с известными «горячими» точками мутагенеза или «эффектом основателя» [8, 9, 22–25]. Исследование групп пациентов с повторяющимися вариантами в генах ВДИ в неродственных семьях поможет определить дальнейшие тенденции при обследовании гетерогенной российской популяции и формировании рекомендаций для семейного консультирования.

Разнообразие дефектов, выявленных более чем в 140 генах и 8 различных хромосомах, свидетель-

ствует о высокой гетерогенности в группе пациентов с ВДИ в России.

Соотношение полов в нашей группе было значительно смещено в сторону пациентов мужского пола (2:1), что можно объяснить высокой распространенностью X-сцепленных форм ВДИ и равным распределением мужчин и женщин среди других форм ВДИ. Эти данные согласуются с результатами европейских исследований [4–6].

Высокая частота семейных случаев (9,6%) говорит о необходимости повышения настороженности врачей при работе с пациентами с редкими генетически детерминированными заболеваниями, важности семейного консультирования и доступности пренатальной/преимплантационной диагностики для семей пациентов с ВДИ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Генетическое обследование является важной частью диагностики пациентов с ВДИ. Понимание механизмов возникновения и наследования этих редких заболеваний в российской гетерогенной популяции может сыграть важную роль в разработке диагностических и терапевтических стратегий.

Подтверждение генетического диагноза позволяет обследовать других родственников в семьях, выявлять пациентов разных возрастов, в том числе взрослых, со стертыми формами болезни, носителей, подбирать потенциальных доноров для родственной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Важным аспектом при подтверждении молекулярно-генетического диагноза является возможность проведения пренатальной и преимплантационной диагностики.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Kuzmenko N.B. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1669-8621>
Pershin D.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6148-7209>
Mukhina A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3305-1694>
Rodina Yu.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9857-4456>
Yukhacheva D.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9078-8206>
Deripapa E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9083-4783>
Kozlova A.L. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2869-6535>
Raykina E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-2053>
Shcherbina A.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3113-4939>

Литература / References

1. Tangye S.G., Al-Herz W., Bousfiha A., Cunningham-Rundles C., Franco J.L., Holland S.M., et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2022 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2022; 42 (7): 1473–507. DOI: 10.1007/s10875-022-01289-3
2. Bousfiha A., Moundir A., Tangye S.G., Picard C., Jeddane L., Al-Herz W., et al. The 2022 Update of IUIS Phenotypical Classification for Human Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol* 2022; 42 (7): 1508–20. DOI: 10.1007/s10875-022-01352-z
3. Notarangelo L.D., Sorensen R. Is it necessary to identify molecular defects in primary immunodeficiency disease? *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 1069–73. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.08.038
4. Abolhassani H., Azizi G., Sharifi L., Yazdani R., Mohsenzadegan M., Delavari S., et al. Global systematic review of primary immunodeficiency registries. *Expert Rev Clin Immunol* 2020; 16 (7): 717–32. DOI: 10.1080/1744666X.2020.1801422
5. El-Helou S.M., Biegner A.K., Bode S., Ehl S.R., Heeg M., Maccari M.E., et al. The German National registry of primary immunodeficiencies (2012–2017). *Front Immunol* 2019; 10: 1272. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01272
6. Marschall K., Hoernes M., Bitzenhofer-Grüber M., Jandus P., Dupenthaler A., Wuillemin W.A., et al. The Swiss National Registry for Primary Immunodeficiencies: report on the first 6 years' activity from 2008 to (2014). *Clin Exp Immunol* 2015; 182: 45–50. DOI: 10.1111/cei.12661
7. Naidoo R., Ungerer L., Cooper M., et al. Primary immunodeficiencies: a 27-year review at a tertiary paediatric hospital in Cape Town, South Africa. *J Clin Immunol* 2011; 31 (1): 99–105.
8. Deripapa E., Balashov D., Rodina Y., Laberko A., Myakova N., Davydova N.V., et al. Prospective Study of a Cohort of Russian Nijmegen Breakage Syndrome Patients Demonstrating Predictive Value of Low Kappa-Deleting Recombination Excision Circle (KREC) Numbers and Beneficial Effect of Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT). *Front Immunol* 2017; 8: 807. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00807
9. Alghamdi M. Familial Mediterranean fever, review of the literature. *Clin Rheumatol* 2017; 36 (8): 1707–13. DOI: 10.1007/s10067-017-3715-5
10. European Society for Immunodeficiencies. Registry Working Party Diagnosis Criteria. (2018). [Electronic resource] URL: <https://esid.org/Working-Parties/Registry-Working-Party/Diagnosis-criteria> (accessed December 3, 2019).

11. Mukhina A.A., Kuzmenko N.B., Rodina Yu.A., Kondratenko I.V., Bologov A.A., Latysheva T.V., et al. Primary Immunodeficiencies in Russia: Data From the National Registry. *Front Immunol* 2020; 11: 1491. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01491
12. Kuzmenko N., Alexenko M., Mukhina A., Rodina Y., Fadeeva M., Pershin D., et al. Genetic Characteristics of a Large Pediatric Cohort of Patients with Inborn Errors of Immunity: Single-Center Experience. *J Clin Immunol* 2024; 44: 165. DOI: 10.1007/s10875-024-01767-w
13. Jindal A.K., Piloni R.K., Rawat A., Singh S. Primary Immunodeficiency Disorders in India—A Situational Review. *Front Immunol* 2017; 8: 714. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00714
14. Zakharova V., Raykina E., Mersyanova I., Deordieva E., Pershin D., Vedmedskia V., et al. Cancer-causing *MAP2K1* mutation in a mosaic patient with cardio-facio-cutaneous syndrome and immunodeficiency. *Hum Mutat* 2022; 43 (12): 1852–5. DOI: 10.1002/humu.24463
15. Терентьева А.И., Викторова Е.А., Захарова В.В., Коновалов Д.В., Бурлаков В.И., Родина Ю.А. и др. Клинический случай протеасом-ассоциированного аутовоспалительного синдрома 2-го типа (PRAAS2). *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2019; 18 (2): 108–13. DOI: 10.24287/1726-1708-2019-18-2-108-113 [Terentieva A.I., Viktorova E.A., Zakharova V.V., Konovalev D.V., Burlakov V.I., Rodina J.A., et al. Clinical case of proteasome-associated autoinflammatory syndrome-2 (PRAAS2). *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2019; 18 (2): 108–13. (In Russ.)].
16. Le Coz C., Nguyen D.N., Su C., Nolan B.E., Albrecht A.V., Khani S., et al. Constrained chromatin accessibility in PU.1-mutated agammaglobulinemia patients. *J Exp Med* 2021; 218 (7): e20201750. DOI: 10.1084/jem.20201750
17. Maffucci P., Filion C.A., Boisson B., Itan Y., Shang L., Casanova J.-L., Cunningham-Rundles C. Genetic Diagnosis Using Whole Exome Sequencing in Common Variable Immunodeficiency. *Front Immunol* 2016; 7: 220. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00220
18. Seleman M., Hoyos-Bachiloglou R., Geha R.S., Chou J. Uses of Next-Generation Sequencing Technologies for the Diagnosis of Primary Immunodeficiencies. *Front Immunol* 2017; 8: 847. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00847
19. Seidel M.G., Kindle G., Gathmann B., Quinti I., Buckland M., van Montfrans J., et al. The European Society for Immunodeficiencies (ESID) Registry Working Definitions for the Clinical Diagnosis of Inborn Errors of Immunity. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019; 7 (6): 1763–70. DOI: 10.1016/j.jaip.2019.02.004
20. Abraham R.S., Butte M.J. The New “Wholly Trinity” in the Diagnosis and Management of Inborn Errors of Immunity. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2021; 9 (2): 613–25. DOI: 10.1016/j.jaip.2020.11.044
21. Al-Saud B., Al-Mousa H., Al Gazlan S., Al-Ghoniaim A., Arnaout R., Al-Seraihy A., et al. Primary Immunodeficiency Diseases in Saudi Arabia: a Tertiary Care Hospital Experience over a Period of Three Years (2010–2013). *J Clin Immunol* 2015; 35 (7): 651–60.
22. Boocock G.R., Morrison J.A., Popovic M., Richards N., Ellis L., Durie P.R., Rommens J.M. Mutations in SBDS are associated with Shwachman–Diamond syndrome. *Nat Genet* 2003; 33 (1): 97–101. DOI: 10.1038/ng1062
23. Garelli S., Dalla Costa M., Sabbadin C., Barollo S., Rubin B., Scarpa R, et al. Autoimmune polyendocrine syndrome type 1: an Italian survey on 158 patients. *J Endocrinol Invest* 2021; 44: 2493–510. DOI: 10.1007/s40618-021-01585-6
24. Heino M., Peterson P., Kudoh J., Shimizu N., Antonarakis S.E., Scott H.S., et al. APECED mutations in the autoimmune regulator (AIRE) gene. *Hum Mutat* 2001; 18 (3): 205–11. DOI: 10.1002/humu.1176
25. Орлова Е.М., Созаева Л.С., Карманов М.Е., Брейвик Л., Хусби Э., Карева М.А. Новые иммунологические методы диагностики аутоиммунного полиэндокринного синдрома 1-го типа (первый опыт в России). *Проблемы эндокринологии* 2015; 61 (5): 9–13. DOI: 10.14341/probl20156159-13 [Orlova E.M., Sozaeva L.S., Karmanov M.E., Breivik L.E., Husebye E.S., Kareva M.A. The new immunological methods for diagnostics of type 1 autoimmune polyendocrine syndrome (the first experience in Russia). *Problems of Endocrinology* 2015; 61 (5): 9–13. (In Russ.)].

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 19.03.2024
Принята к печати 11.10.2024



EDN: RHKAJU

Контактная информация:

Луныкова Мария Анатольевна,
канд. мед. наук, директор
Научно-клинического центра гематологии,
онкологии и иммунологии
ФГБОУ ВО «Рязанский государственный
медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России
Адрес: 390029, Рязань, ул. Строителей, 5В
E-mail: mlunyakova@mail.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-138-143

Железорефрактерная железододефицитная анемия у детей: первые генетически подтвержденные случаи в России

М.А. Луныкова¹, В.Г. Демихов¹, Н.В. Инякова¹, Е.В. Райкина²

¹Научно-клинический центр гематологии, онкологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань

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

Железорефрактерная железододефицитная анемия (iron refractory iron deficiency anemia, IRIDA) – редкое наследственное заболевание, вызванное дефектом гена *TMPRSS6*. Потеря функции *TMPRSS6* вызывает дефицит железа из-за неадекватно высокой продукции гепцидина, что сопровождается значительным снижением абсорбции железа и его секвестрацией в макрофагах. Пациенты невосприимчивы к лечению пероральными препаратами железа, но демонстрируют частичный ответ на внутривенную ферротерапию. Мы представляем 2 первых генетически подтвержденных случая IRIDA в России. Обе пациентки наблюдались гематологом по поводу хронической железододефицитной анемии с отсутствием ответа на пероральную терапию препаратами железа и частичным ответом на парентеральную ферротерапию. Родители пациенток дали согласие на использование информации, в том числе фотографий детей, в научных исследованиях и публикациях. У пациенток заподозрена IRIDA, генетический анализ мутаций гена *TMPRSS6* подтвердил диагноз. Таким образом, при наличии у больных детского возраста гипохромной микроцитарной анемии, сопровождающейся неадекватным ответом на терапию препаратами железа, при дифференциальной диагностике следует учитывать IRIDA. Для подтверждения IRIDA необходимо проводить поиск мутаций гена *TMPRSS6*.

Ключевые слова: железорефрактерная железододефицитная анемия, ген *TMPRSS6*, гепцидин, ферротерапия, сывороточное железо, трансферрин

Луныкова М.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 138–43. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-138-143

Iron-refractory iron deficiency anemia in children: first genetically confirmed cases in Russia

M.A. Lunyakova¹, V.G. Demikhov¹, N.V. Inyakova¹, E.V. Raykina²

¹Clinical Research Center of Hematology, Oncology and Immunology of the I.P. Pavlov Ryzan State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ryzan

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

Iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA) is a rare inherited disorder caused by a defect in the *TMPRSS6* gene. The loss of *TMPRSS6* function causes iron deficiency due to abnormally high hepcidin levels, accompanied by significantly reduced iron absorption and iron sequestration in macrophages. IRIDA patients are refractory to oral iron treatment but partially respond to intravenous iron supplementation therapy. Here, we present two first genetically confirmed IRIDA cases in Russia. Both girls were under care of a hematologist for chronic iron deficiency anemia with no response to oral iron therapy and a partial response to parenteral iron therapy. The patients' parents gave consent to the use of their children's data, including photographs, for research purposes and in publications. IRIDA was suspected, and genetic analysis of mutations in the *TMPRSS6* gene confirmed the diagnosis of IRIDA. Thus, IRIDA is one of the differential diagnosis to bear in mind in cases of hypochromic microcytic anemia in pediatric patients with an inadequate response to iron therapy. To confirm IRIDA, *TMPRSS6* gene sequence analysis should be performed.

Key words: iron-refractory iron deficiency anemia, *TMPRSS6* gene, hepcidin, iron therapy, serum iron, transferrin

Lunyakova M.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 138–43. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-138-143

Железорефрактерная железододефицитная анемия (iron refractory iron deficiency anemia, IRIDA) представляет собой редкое аутосомно-рецессивное нарушение метаболизма железа, характеризующееся железододефицитной анемией (ЖДА) (гипохромной, микроцитарной), которая не отвечает на пероральную ферротерапию и частично корректируется парентеральным введением железа. К настоящему времени, по данным сайта Orphanet, описано 50 случаев из 32 семей разной этнической принадлеж-

ности, однако вполне вероятно, что это состояние недооценивается [1].

IRIDA вызывается мутациями гена *TMPRSS6* (transmembrane serine protease 6), который кодирует экспрессию трансмембранной сериновой протеазы (матриптаза-2) печенью. Матриптаза-2 играет одну из центральных ролей в регуляции системного гомеостаза железа, останавливая секрецию гепцидина гепатоцитами [2, 3].

Центральным регулятором гомеостаза железа является гепцидин, который регулирует перенос

железа в плазму посредством инактивации (лизосомальной деградации) ферропортина в энтероцитах, макрофагах и гепатоцитах. Ферропортин работает как основной экспортер железа, перенося в кровотока абсорбированное железо из энтероцитов и реутилизированное железо поврежденных и стареющих эритроцитов из макрофагов. Инактивируя ферропортин, гепцидин снижает всасывание железа в кишечнике и высвобождение его из макрофагов [4].

Транскрипция гепцидина в гепатоцитах активируется циркулирующим и тканевым железом посредством взаимодействия с синусоидальными эндотелиальными клетками печени и активации сигнального пути BMP–SMAD. Ингибирование экспрессии гепцидина происходит при дефиците железа, расширении эритропоэза, анемии/гипоксии [5].

Роль ингибитора экспрессии гепцидина выполняет матриптаза-2, кодируемая геном *TMPRSS6*. Матриптаза-2 расщепляет корецептор BMP гемювелин, тем самым нарушая передачу сигналов по BMP–SMAD и угнетая транскрипцию гепцидина [6].

Таким образом, результатом мутации гена *TMPRSS6* является нарушение регуляции системного гомеостаза железа, приводящее к постоянно высокой концентрации гепцидина, который, в свою очередь, блокирует поступление железа в плазму и приводит к его дефициту и отсутствию ответа на пероральную ферротерапию [7].

Поскольку у людей нет физиологически регулируемого механизма выведения железа из организма, контроль баланса железа происходит почти полностью на уровне кишечного всасывания [8].

Большинство пациентов с IRIDA нормально растут, развиваются и не имеют серьезных клинических признаков анемии, за исключением бледности. Степень анемии чаще всего легкая и более выраженная в детском возрасте. При более тяжелой анемии могут появиться слабость, утомляемость, головокружение, сердцебиение и одышка при физической нагрузке [9, 10].

Картина гипохромной микроцитарной анемии (ЖДА) без ответа на пероральную ферротерапию появляется после неонатального периода. Лабораторно обращают на себя внимание очень низкие концентрации сывороточного железа (СЖ) и низкое насыщение трансферрина железом (НТЖ; < 10%) при нормальном содержании сывороточного ферритина (если ранее уже проводилась внутривенная ферротерапия в связи с рефрактерностью анемии к пероральной ферротерапии, содержание сывороточного ферритина может быть несколько повышено). Диагноз высоко вероятен после исключения основных причин рефрактерности к пероральной ферротерапии (целиакия, хеликобактерная инфекция,

аутоиммунный гастрит, анемия хронического заболевания). При дальнейшем диагностическом поиске могут быть использованы исследование концентрации гепцидина в крови и количественный тест на абсорбцию железа, однако их результаты неспецифичны и не коррелируют с фенотипом заболевания и ответом на пероральную ферротерапию [11].

При отсутствии воспаления отношение НТЖ/гепцидин является многообещающим диагностическим тестом. В исследовании Hilde van der Staaij и соавт. (2022) показано, что у пациентов с IRIDA отношение НТЖ/гепцидин было значительно ниже по сравнению с контрольной группой (пациенты с ЖДА): медиана 0,6%/nM (межквартильный диапазон (IQR) 0,4–1,1%/nM) и 16,7%/nM (IQR 12,0–24,0%/nM) соответственно (95% доверительные интервалы чувствительности 84–100% и специфичности 91–100%). Отношение НТЖ/гепцидин показывает высокую эффективность при проведении дифференциального диагноза между IRIDA и ЖДА при условии, что недавняя терапия препаратами железа и воспаление от умеренной до тяжелой степени отсутствуют (рисунки 1) [12].

Окончательный диагноз подтверждается выявлением мутации гена *TMPRSS6*. Данные исследований о корреляции генотип–фенотип у пациентов с IRIDA и их родственников подтверждает представление о том, что на фенотипическую пенетрантность дефектов *TMPRSS6* влияют другие (эпигенетические) факторы и факторы окружающей среды, такие как рост, пол, сопутствующие заболевания (воспаление, кровопотери) [10].

IRIDA поддается парентеральной ферротерапии с полной или частичной коррекцией анемии. Имеются отдельные сообщения об эффективности пероральной ферротерапии, а также возможной выгоде ее совместного применения с витамином С. Однако коррекция анемии происходит значительно медленнее, концентрация гемоглобина редко нормализуется, сохраняются микроцитоз и низкая НТЖ (< 10%) [10].

В Научно-клиническом центре гематологии, онкологии и иммунологии (НКЦ ГОИ) выявлены 2 девочки, которым был генетически подтвержден диагноз IRIDA.

КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ

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

Клинический случай №1

Пациентка Л., обратилась к гематологу впервые в возрасте 5 лет с жалобами на бледность, периодически появляющиеся «заеды», хроническую

Рисунок 1

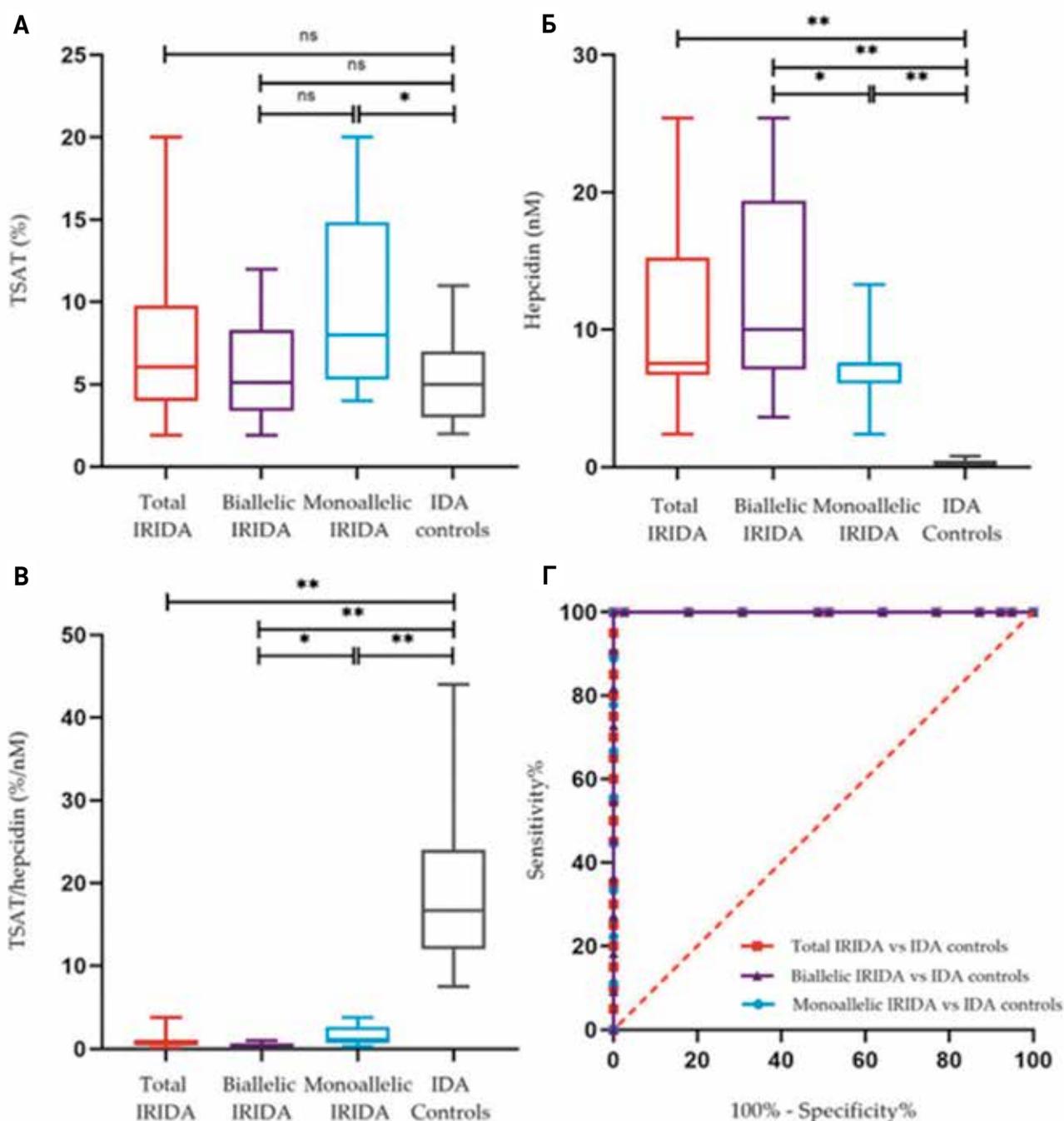
НТЖ (А), содержание гепцидина (Б) и отношение НТЖ/гепцидин (В) в общей группе пациентов с IRIDA ($n = 20$), у пациентов с биаллельной ($n = 11$), моноаллельной ($n = 9$) IRIDA и ЖДА (контрольная группа; $n = 39$); Г – ROC-анализ отношения НТЖ/гепцидин (%/нМ) у пациентов с ЖДА (контрольная группа) по сравнению с общей группой пациентов с IRIDA (красный цвет), с биаллельной (фиолетовый цвет) и моноаллельной (синий цвет) IRIDA [12]

ns – достоверно не значимо; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$ по непараметрическому U-критерию Манна–Уитни

Figure 1

Transferrin saturation with iron (TSAT; A), hepcidin levels (B) and TSAT/hepcidin ratio (B) in the total group of patients with IRIDA ($n = 20$), biallelic IRIDA patients ($n = 11$), monoallelic IRIDA patients ($n = 9$) and IDA patients (controls; $n = 39$); Г – ROC curve analysis comparing the TSAT/hepcidin ratio (%/nM) in IDA patients (the control group) versus the total IRIDA group (red), versus the biallelic IRIDA group (purple), and versus the monoallelic IRIDA group (blue) [12]

ns – not significant; * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.001$, by non-parametric Mann–Whitney U test



анемию без ответа на повторные курсы терапии пероральными препаратами железа. Из анамнеза известно, что ребенок безотягощенной наследственности, родился с удовлетворительными весоростовыми показателями, находился на

вскармливании адаптированной смесью. Выявлено, что гипохромная микроцитарная анемия впервые была выявлена в возрасте 7 месяцев (гемоглобин 80 г/л), проводились повторные курсы ферротерапии внутри без ответа, в 3 года был проведен

курс парентеральной ферротерапии железа (III) гидроксид сахарозным комплексом с кратковременной нормализацией гемоглобина.

На момент обращения к гематологу проводился очередной курс терапии препаратом железа (III) гидроксид полимальтозатом.

При осмотре физическое развитие среднее, гармоничное (вес 18 кг, рост 119 см), обращает на себя внимание бледность кожи и слизистых оболочек. При обследовании в НКЦ ГОИ выявлена гипохромная микроцитарная анемия II степени (эритроциты $5,07 \times 10^{12}/л$, гемоглобин 80 г/л, средний объем эритроцитов 54,6 фл, среднее содержание гемоглобина в эритроците 15,8 пг) без отклонений по лейкоцитарному и тромбоцитарному росткам, снижение СЖ (1,6 мкмоль/л) и НТЖ (4%) на фоне терапии препаратами железа внутрь, нормальная концентрация ферритина (38,4 нг/мл). Проведена смена препарата на сульфат железа, который девочка получала в течение 2 мес, ответа не получено.

При дообследовании исключены талассемия (гемоглобин А 98,1%, гемоглобин А2 1,9%), целиакия (иммуноглобулин А к тканевой трансглутаминазе и иммуноглобулин А общий в пределах нормы), патология щитовидной железы (тиреотропный гормон, Т4, антитела к тиреопероксидазе в норме), occultные желудочно-кишечные кровопотери (кал на скрытую кровь иммунохимическим методом неоднократно отрицательный).

Заподозрена IRIDA, был проведен тест на всасывание железа, в котором зафиксирован значимый прирост концентрации СЖ и НТЖ через 2 и 4 ч после приема сульфата железа в дозе 5 мг/кг (рисунок 2), что не противоречит диагнозу, так как, по данным литературы, количественные результаты теста на абсорбцию железа не коррелируют с фенотипом заболевания и ответом на пероральную ферротерапию.

Лабораторный поиск сузился до исследования концентрации гепцидина, молекулярно-генетического анализа мутации гена *TMPRSS6*, что технически было невыполнимо на тот период времени. В связи с прогрессирующим снижением гемоглобина проведен повторный курс парентеральной ферротерапии, динамика показателей концентрации гемоглобина и обмена железа (СЖ, НТЖ, ферритин) представлена на рисунке 3.

В ноябре 2022 г. в лаборатории молекулярной биологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России методом прямого секвенирования по Сэнгеру выявлены мутации гена *TMPRSS6*: в экзоне 2 замена одного нуклеотида в гетерозиготном состоянии с.191G<A, приводящая к образованию преждевременного

Рисунок 2
Динамика показателей СЖ и НТЖ при проведении теста на абсорбцию железа у пациентки Л.

Figure 2
Changes in serum iron (SI) concentration and TSAT over time according to the results of iron absorption test in the patient L.

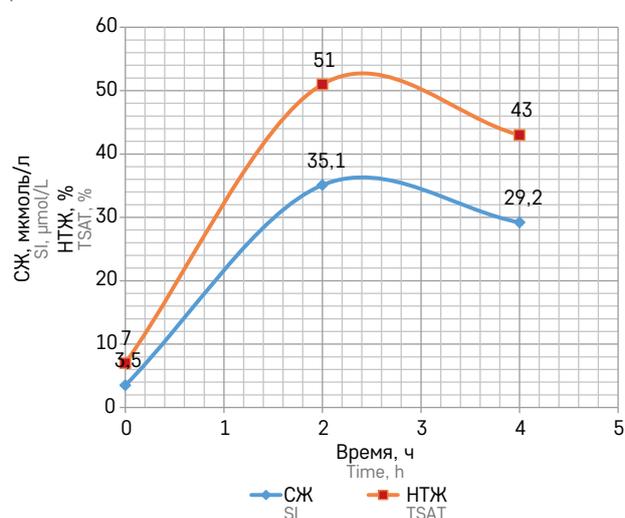
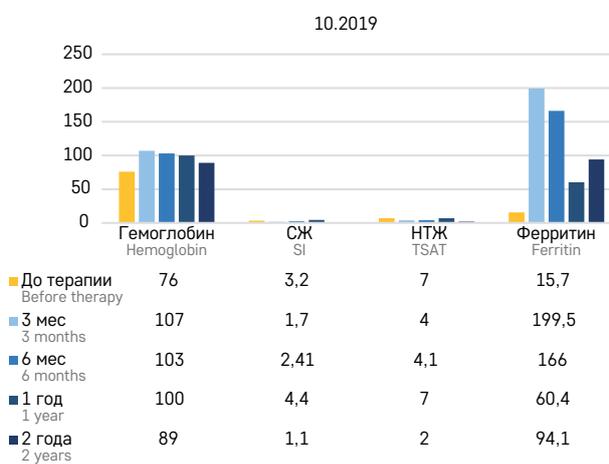


Рисунок 3
Динамика показателей концентрации гемоглобина и обмена железа (СЖ, НТЖ, ферритин) после курса парентеральной ферротерапии железа (III) гидроксид сахарозным комплексом (кумулятивная доза 540 мг) у пациентки Л.

Figure 3
Changes in hemoglobin concentration and iron metabolism parameters (SI, TSAT, ferritin) after a course of parenteral iron therapy with iron (III)-hydroxide sucrose complex (the cumulative dose 540 mg) in the patient L.



стоп-кодона W64* (p.Trp64Ter) [13], и в экзоне 15 замена одного нуклеотида в гетерозиготном состоянии с.1780G<C, приводящая к замене аминокислоты p.Gly594Arg (G594R) [14, 15].

Таким образом, у ребенка верифицирована IRIDA.

Прогрессирующее снижение гемоглобина произошло в течение 2 лет после парентеральной ферротерапии, в связи с чем проведен повторный курс (по решению врачебной комиссии – курс карбоксимальтозата железа в суммарной дозе 700 мг), динамика показателей концентрации гемоглобина и обмена

железа (СЖ, НТЖ, ферритин) представлена на рисунке 4.

Клинический случай №2

Девочка Ш., в возрасте 6 месяцев обратилась к гематологу в НКЦ ГОИ с жалобами на снижение гемоглобина. Из анамнеза известно, что ребенок родился доношенным с удовлетворительными весоростовыми показателями, находился на грудном вскармливании. Наследственность отягощена по хронической анемии, которая имеется у мамы, бабушки по линии мамы и родного брата мамы (не обследованы).

При первичном обследовании была выявлена гипохромная микроцитарная анемия II степени (гемоглобин 84 г/л, средний объем эритроцитов 62,1 фл, СЖ 4,4 мкмоль/л, НТЖ 8%, ферритин 57,3 нг/мл). На фоне пероральной ферротерапии в течение 5 мес со сменой препаратов железа ответа получено не было (гемоглобин 84–89 г/л, нарастание гипохромии с 6,0 до 2,6 мкмоль/л, НТЖ с 13% до > 7%, нормальные значения ферритина 44,9–57,3 нг/мл). При дообследовании также были исключены талассемия, целиакия, патология щитовидной железы, оккультные желудочно-кишечные кровопотери. В связи с подозрением на IRIDA определялась концентрация гепцидина в крови (24,5 нг/мл – повышена), был проведен тест на абсорбцию железа (зафиксирован значимый прирост концентрации СЖ и НТЖ через 2 и 4 ч после приема сульфата железа в дозе 5 мг/кг) (рисунк 5).

Возможности проведения молекулярно-генетического исследования *TMPRSS6* не было.

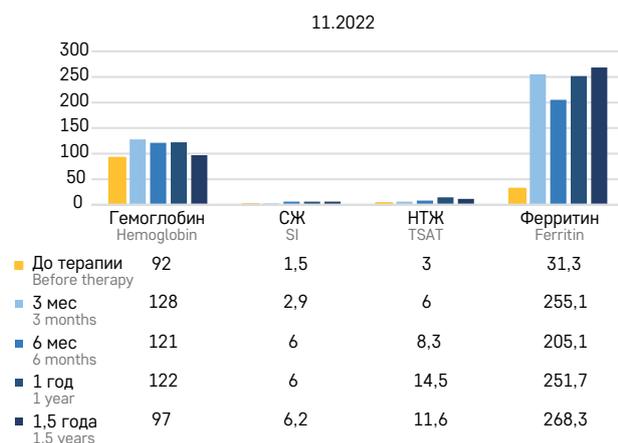
В возрасте 1 года был проведен курс внутривенной ферротерапии (железа (III) гидроксид сахара-

Рисунок 4

Динамика показателей концентрации гемоглобина и обмена железа (СЖ, НТЖ, ферритин) после курса парентеральной ферротерапии карбоксималтозатом железа у пациентки Л.

Figure 4

Changes in hemoglobin concentration and iron metabolism parameters (SI, TSAT, ferritin) after a course of parenteral iron therapy with ferric carboxymaltose in the patient L.



розный комплекс, курсовая доза 225 мг), динамика показателей концентрации гемоглобина и обмена железа (СЖ, НТЖ, ферритин) представлена на рисунке 6.

Проведенное молекулярно-генетическое исследование гена *TMPRSS6* выявило в экзоне 3 замену одного нуклеотида в гетерозиготном состоянии с.241G>T, приводящую к замене аминокислоты p.Gly81Cys (G81C), и в экзоне 11 одного нуклеотида в гетерозиготном состоянии с.1210C>T, приводящую к замене аминокислоты p.Arg404Cys (R404C). Обнаруженные генетические варианты в научной литературе как патогенные не описаны, по совокупности данных классифицируются как варианты неясного клинического значения. Проведено молекулярно-генетическое исследование родителей (секвенирование по Сэнгеру): у мамы выявлена мутация в экзоне

Рисунок 5

Динамика показателей СЖ и НТЖ при проведении теста на абсорбцию железа у пациентки Ш.

Figure 5

Changes in SI concentration and TSAT over time according to the results of iron absorption test in the patient Sh.

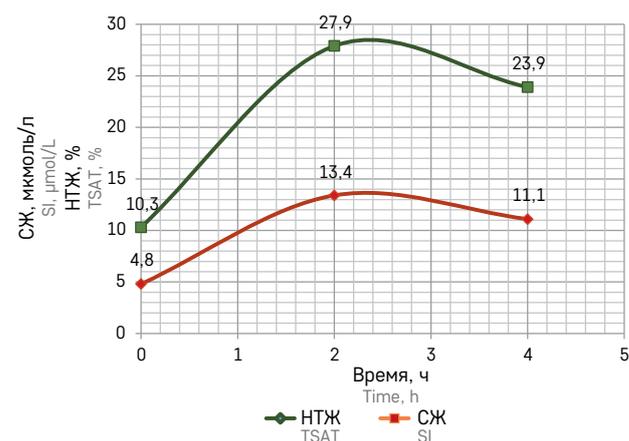
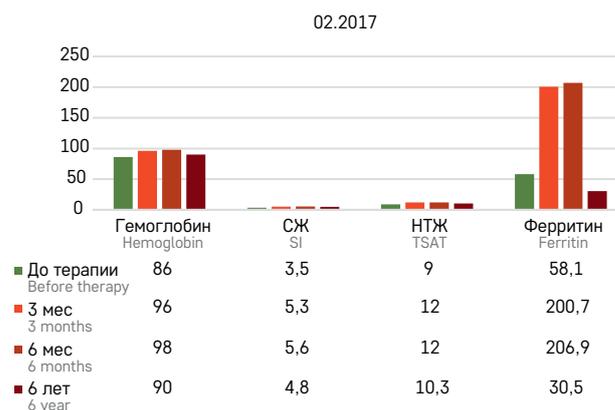


Рисунок 6

Динамика показателей концентрации гемоглобина и обмена железа (СЖ, НТЖ, ферритин) после курса парентеральной ферротерапии железа (III) гидроксид сахаразным комплексом (кумулятивная доза 225 мг) у пациентки Ш.

Figure 6

Changes in hemoglobin concentration and iron metabolism parameters (SI, TSAT, ferritin) after a course of parenteral iron therapy with iron (III)-hydroxide sucrose complex (the cumulative dose 225 mg) in the patient Sh.



11 (с.1210С>Т), у папы – мутация в экзоне 3 (с.241G>Т).

Таким образом, выявленные у ребенка мутации гена *TMPRSS6* в компаунд-гетерозиготном состоянии являются причиной заболевания, установлен диагноз IRIDA. От повторного курса парентеральной ферротерапии родители отказались, темпы физического развития в норме, продолжено динамическое наблюдение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

IRIDA должна учитываться при дифференциальной диагностике микроцитарной гипохромной анемии с очень низкими показателями СЖ и НТЖ (< 10%) и рефрактерностью к пероральной ферротерапии. Количественные результаты теста на абсорбцию железа не коррелируют

с фенотипом заболевания и ответом на пероральную ферротерапию, что ограничивает диагностическую ценность этого теста у пациентов с подозрением на IRIDA. Диагноз IRIDA основан на выявлении мутаций гена *TMPRSS6*. IRIDA демонстрирует ответ на внутривенную ферротерапию с частичной или полной коррекцией анемии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Lunyakova M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4543-2945>

Demikhov V.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6120-4678>

Inyakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4210-3492>

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

Литература / References

- [Electronic resource] URL: <https://www.orpha.net/en/disease/detail/209981> (accessed 29.10.2024).
- Finberg K.E., Heeney M.M., Campagna D.R., Aydinok Y., Pearson H.A., Hartman K.R., et al. Mutations in *TMPRSS6* cause iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA). *Nat Genet* 2008; 40: 569–71.
- Mohd Atan F.N.E., Wan Mohd Saman W.A., Kamsani Y.S., Kamsani Y.S., Khalid Z., Rahman A.A. Review *TMPRSS6* gene polymorphisms associated with iron deficiency anemia among global population. *Egypt J Med Hum Genet* 2022; 23: 147. DOI: 10.1186/s43042-022-00362-1
- Nemeth E., Ganz T. Heparin-Ferroportin Interaction Controls Systemic Iron Homeostasis. *Int J Mol Sci* 2021; 22 (12): 6493. DOI: 10.3390/ijms22126493
- Roth M.-P., Meynard D., Coppin H. Regulators of hepcidin expression. *Vitam Horm* 2019; 110: 101–29. DOI: 10.1016/bs.vh.2019.01.005
- Enns C.A., Weiskopf T., Zhang R.H., Wu J., Jue S., Kawaguchi M., et al. Matriptase-2 regulates iron homeostasis primarily by setting the basal levels of hepatic hepcidin expression through a nonproteolytic mechanism. *Biol Chem* 2023; 299 (10): 105238. DOI: 10.1016/j.jbc.2023.105238
- Camaschella C., Nai A., Silvestri L. Iron metabolism and iron disorders revisited in the hepcidin era. *Haematologica* 2020; 105 (2): 260–72. DOI: 10.3324/haematol.2019.232124
- Heeney M.M., Finberg K.E. Iron-Refractory Iron Deficiency Anemia (IRIDA). *Hematol Oncol Clin North Am* 2014; 28 (4): 637–52. DOI: 10.1016/j.hoc.2014.04.009
- De Falco L., Sanchez M., Silvestri L., Kannengiesser C., Muckenthaler M.U., Iolascon A., et al. Iron refractory iron deficiency anemia. *Haematologica* 2013; 98 (6): 845–53. DOI: 10.3324/haematol.2012.075515
- Donker A.E., Schaap C.C.M., Novotny V.M.J., Smeets R., Peters T.M.A., van den Heuvel B.L.P., et al. Iron refractory iron deficiency anemia (IRIDA): a heterogeneous disease that is not always iron refractory. *Am J Hematol* 2016; 91 (12): E482–90. DOI: 10.1002/ajh.24561
- Auerbach M., Adamson J.W. How we diagnose and treat iron deficiency anemia. *Am J Hematol* 2016; 91(1): 31–8. DOI: 10.1002/ajh.24201
- van der Staaij H., Donker A.E., Bakkeren D.L., Salemans J.M.J.I., Mignot-Evers L.A.A., Bongers M.Y., et al. Transferrin Saturation/Hepcidin Ratio Discriminates *TMPRSS6*-Related Iron Refractory Iron Deficiency Anemia from Patients with Multi-Causal Iron Deficiency Anemia. *Int J Mol Sci* 2022; 23 (3): 1917. DOI: 10.3390/ijms23031917
- Al-Jamea L.H., Woodman A., Heiba N.M., Elshazly S.A., Ben Khalaf N., Fathallah D.M., et al. Genetic analysis of *TMPRSS6* gene in Saudi female patients with iron deficiency anemia. *Hematol Oncol Stem Cell Ther* 2021; 14 (1): 41–50.
- Choi H.S., Yang H.R., Song S.H., Seo J.-Y., Lee K.-O., Kim H.-J. A novel mutation Gly603Arg of *TMPRSS6* in a Korean female with iron-refractory iron deficiency anemia. *Pediatr Blood Cancer* 2012; 58 (4): 640–2.
- Arsenault V., Mailloux C., Bonnefoy A., Lemyre E., Pastore Y. Iron-Refractory Iron Deficiency Anemia. *Pediatrics* 2016; 138 (1): e20153608.

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 07.11.2024
Принята к печати 29.11.2024



EDN: SOXHIW

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-144-151

Стеатогепатитный вариант гепатоцеллюлярной карциномы у ребенка (редкое клиническое наблюдение и обзор литературы)

Т.А. Шароев¹⁻³, Д.К. Нишоннов¹, И.С. Мамедов¹, С.С. Жилина^{1,4}, О.А. Перевезенцев¹, Д.А. Скобеев⁵, И.В. Золкина⁶, М.И. Ткачева⁶

¹ГБУЗ «Научно-практический центр специализированной медицинской помощи детям им. В.Ф. Войно-Ясенецкого Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

²ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва

³ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

⁴ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

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

⁶ООО «Клиника новых медицинских технологий АрхиМед», Москва

Злокачественные опухоли печени (ЗОП) представляют собой редкую патологию детского возраста, занимая 1–2% в структуре всех злокачественных новообразований у детей. Среди ЗОП доминирует гепатобластома, встречающаяся у детей в возрасте от 6 месяцев до 3 лет в 80% наблюдений. Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) чаще регистрируется у детей старшего возраста, а у подростков она превалирует над гепатобластомой. В отличие от взрослых у большинства детей этиологические факторы ГЦК не обнаружены. При обсуждении гистологической классификации (5-е издание Всемирной организации здравоохранения) обращено внимание на подтип ГЦК – стеатогепатитный вариант, который, по данным литературных источников, не встречался в детском возрасте. В работе представлено собственное клиническое наблюдение девочки 11 лет, у которой была выявлена злокачественная опухоль правой доли печени. Родители пациентки дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях. Диагноз установлен на основании проведенного комплексного обследования, включающего визуализирующие методы диагностики, исследование крови на опухолевые маркеры. Альфа-фетопrotein инициально был увеличен до более 8000 нг/мл. После проведенной неoadъювантной полихимиотерапии с положительным терапевтическим эффектом была выполнена операция в объеме резекции V и VI сегментов печени с опухолью. Гистологическое и иммуногистохимическое исследования выявили стеатогепатитный вариант ГЦК. Подтверждена радикальность выполненной операции (резекция R0). В литературных источниках обсуждается связь стеатогепатитного варианта ГЦК с ожирением, метаболическим синдромом. Рассматриваются варианты развития данного вида ЗОП вне связи с ожирением и неалкогольной жировой болезнью печени. Представленное клиническое наблюдение является первым описанием стеатогепатитного варианта ГЦК у ребенка. Несмотря на уникальность клинического случая, врачам-детским онкологам следует знать, что не только у взрослых, но и у детей может регистрироваться стеатогепатитный вариант ГЦК, который не связан с ожирением и метаболическим синдромом. Стеатогепатитная ГЦК с большей вероятностью является результатом изменений общих генов или метаболических путей внутри опухоли и идеальным подтипом для будущих генетических исследований.

Ключевые слова: детская онкология, онкохирургия, опухоли печени, стеатогепатитная гепатокарцинома, редкие опухоли, морфология, лабораторная диагностика, хромато-масс-спектрометрия

Шароев Т.А. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 144–151.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-144-151

Steatohepatic variant of hepatocellular carcinoma in a child (a rare clinical case report and a literature review)

T.A. Sharoev¹⁻³, D.K. Nishonov¹, I.S. Mamedov¹, S.S. Zhilina^{1,4}, O.A. Perevesentsev¹, D.A. Skobeev⁵, I.V. Zolkina⁶, M.I. Tkacheva⁶

¹The V.F. Voyno-Yasensky Scientific and Practical Center of Specialized Medical Care for Children of the Department of Health of Moscow, Moscow

²The M.F. Vladimirov Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI), Moscow

³The Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

⁴The N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

⁵The Morozov Children's City Clinical Hospital of the Department of Health of Moscow, Moscow

⁶Clinic of Novel Medical Technologies 'Arkhimed', Moscow

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 07.11.2024

Accepted 29.11.2024

Malignant liver tumors are a rare type of pediatric cancer, accounting for 1–2% of all malignant neoplasms in children. Hepatoblastoma is the most common malignant liver tumor, occurring in 80% of cases in children aged 6 months to 3 years. Hepatocellular carcinoma (HCC) usually affects older children, and in adolescents it is more common than hepatoblastoma. Unlike adults, etiological factors for HCC have not been identified in most children. When discussing the histological classification (the 5th edition of the World Health Organization), special attention was drawn to one of the subtypes of HCC – the steatohepatic variant, which, according to the literature, had never been encountered in children. Here, we present a clinical case of an 11-year-old girl, who was diagnosed with malignant tumor of the right liver lobe. The patient's parents gave consent to the use of their child's data, including photographs, for research purposes and in publications. The diagnosis was made based on the results of a comprehensive diagnostic evaluation, including imaging studies and blood testing for tumor markers. The initial alpha-fetoprotein level was increased to more than 8000 ng/mL. After successful neoadjuvant multi-agent chemotherapy, the patient underwent surgery involving the resection of hepatic segments V and VI containing the tumor. Histological examination and immunohistochemistry revealed the steatohepatic variant of HCC. The radicality of the surgery (R0 resection) was confirmed. In some published studies, an association of steatohepatic HCC (SH-HCC) with obesity and metabolic syndrome is discussed. In others, however, it is suggested that there may be no connection between the development of SH-HCC and obesity or non-alcoholic fatty liver disease. This clinical case report is the first description of SH-HCC in a child. Despite the uniqueness of this case, pediatric oncologists should be aware that the steatohepatic variant of HCC not associated with obesity or metabolic syndrome can also occur in children. SH-HCC is more likely to result from alterations of common genes or metabolic pathways within the tumor and is an ideal subtype for future genetic studies.

Key words: *pediatric oncology, cancer surgery, liver tumors, steatohepatic hepatocarcinoma, rare tumors, morphology, laboratory diagnosis, liquid chromatography/mass spectrometry*

Sharoev T.A. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2024; 23 (4): 144–51.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-144-151

Злокачественные опухоли печени (ЗОП) представляют собой редкую патологию детского возраста. По данным мировой литературы, ЗОП составляют 1–2% в структуре всех злокачественных новообразований у детей, включая гемобластозы и опухоли центральной нервной системы [1–3].

Среди ЗОП у детей доминирует гепатобластома, которая чаще всего регистрируется у пациентов с 6-месячного возраста и до 3 лет, составляя до 80% первичных ЗОП. Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) встречается в детском возрасте значительно реже. Между тем, у детей старшего возраста отмечается рост заболеваемости ГЦК, которая у подростков превалирует над гепатобластомой [4, 5].

В отличие от взрослых у большинства детей или подростков этиологические факторы ГЦК не обнаружены. В детской возрастной группе различают две подгруппы ГЦК: первая – на фоне цирроза или основного метаболического, инфекционного или сосудистого заболевания печени, вторая – спорадическая ГЦК без предшествующего заболевания печени. Тирозинемия и перинатально приобретенный вирус гепатита В (HBV) являются двумя основными факторами риска. Так, в районах с высокой распространенностью HBV пожизненный риск развития ГЦК у хронических носителей HBV оценивается в 10–25% [6–8].

Рост уровня ожирения и связанное с ожирением перепрограммирование липидного обмена гепатоцитов увеличивают распространенность богатой липидами ГЦК у молодых людей. Большинство случаев рака печени у детей возникает в здоровом органе за некоторыми исключениями, такими как прогрессирующий семейный внутривнутрипеченочный холестаза, наследственная тирозинемия, дефицит альфа-1-антитрипсина и генетический гемохроматоз. За последнее десятилетие, несмотря на то, что мультидисциплинарные методы лечения, включая хирургическую резекцию и химиотерапию, значительно улучшили результаты терапии пациентов с точки

зрения снижения частоты рецидивов и увеличения общей выживаемости у детей с неоперабельным раком печени, 5-летняя выживаемость по-прежнему составляет менее 20% [8].

Прогноз при ГЦК у детей значительно уступает таковому при гепатобластоме. Пятилетняя выживаемость без осложнений при ГЦК составляет менее 30%, тогда как выживаемость при гепатобластоме – более 80% [2].

Основным методом лечения ГЦК у детей является хирургическое вмешательство: резекции печени различного объема или трансплантация печени.

Химиотерапия также применяется при лечении ГЦК в качестве неoadъювантной или адъювантной терапии.

Международные группы провели испытания при ГЦК у детей с использованием схемы химиотерапии на основе цисплатина и доксорубина (PLADO), как при гепатобластоме, но эффективность их ограничена. Мультикиназный ингибитор сорафениб, получивший положительные результаты у взрослых и в пилотном исследовании у детей, в настоящее время тестируется в сочетании с химиотерапией в рамках клинического исследования РНИТТ III фазы. В некоторых исследованиях изучались генетические профили пациентов в целях выявления биологических признаков, определяющих агрессивность ГЦК у детей. Пути, участвующие в росте и дифференцировке, нарушены, и, как показано при HBV и ГЦК у взрослых, также выявляется важная роль пути Wnt/CTNBN1 в патогенезе ГЦК у детей. Расширенный молекулярный анализ образцов опухоли может дать информацию о путях, являющихся возможными мишенями биологических и иммунотерапевтических средств, открывая новые фармакологические возможности для лечения детской ГЦК [2].

Важным моментом в определении стратегии лечения ЗОП у взрослых и детей является использование клинико-морфологических классификаций. Все большее внимание сегодня заслуживают моле-

Correspondence:

Timur A. Sharoev,
Head of the Scientific Department
at the V.F. Voyno-Yasenetsky Scientific
and Practical Center of Specialized Medical
Care for Children; Professor
at the L.A. Durnov Department of Pediatric
Oncology of the Russian Medical Academy
of Continuous Professional Education
of Ministry of Healthcare of the Russian
Federation; Professor at the Department
of Pediatrics of the Postgraduate Training
Faculty of the M.F. Vladimirov Moscow
Regional Research and Clinical
Institute (MONIKI)
Address: 38 Aviatorov St.,
119620 Moscow, Russia
E-mail: timuronco@mail.ru

кулярно-генетические исследования, роль которых в определении лечебной тактики у больного трудно переоценить. В своей клинической практике мы используем классификацию Всемирной организации здравоохранения (5-е издание, 2019 г.), в которой новые изменения изложены в полной мере и охватывают все этапы возникновения, формирования и развития ГЦК, а также главные морфогенетические особенности опухоли [9, 10].

Сопоставление данной классификации с предыдущей (2010 г.) [11] выявило ряд существенных отличий – исключена недифференцированная карцинома, определены следующие подтипы: стеатогепатитный, макротрабекулярный, массивный, хромофобный, богатый нейтрофилами, богатый лимфоцитами [10].

Представленные подтипы ГЦК встречаются у взрослых пациентов. Это касается и стеатогепатитного варианта ГЦК (SH-ГЦК), описания которого у детей нам не удалось найти в литературных источниках.

В связи с этим клиническое наблюдение за пациенткой с установленным диагнозом SH-ГЦК представляет безусловный интерес. Родители пациентки дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Девочка В., 11 лет (дата рождения 12.05.2012), проживающая в Московской области, в мае 2023 г. пожаловалась на боли в животе, тошноты и рвоты не было. Отмечен подъем температуры до субфебрильных цифр. В связи с постепенным нарастанием болевого синдрома ребенок был госпитализирован в одну из московских больниц с подозрением на острый аппендицит. По данным проведенного обследования (ультразвуковое исследование, компьютерная томография (КТ) органов живота) диагноз острой хирургической патологии был исключен. По данным визуализирующих методов обследования обнаружено опухолевидное образование в области правой доли печени; 5 июля 2023 г. пациентка переведена для обследования и специального лечения в ГБУЗ «НПЦ спец. мед. помощи детям ДЗМ».

Состояние девочки при поступлении оценено как объективно тяжелое по основному заболеванию. Самочувствие было удовлетворительным. Ребенок нормостеник. Вес девочки соответствует физиологическому возрасту. В семье пациентки родители нормального телосложения. Признаков ожирения у членов семьи не отмечено. В анамнезе инфекционных и других заболеваний печени не выявлено.

Проведены необходимые визуализирующие методы исследования печени.

При ультразвуковом исследовании печени в правой доле в проекции V сегмента определяется многоузловое образование с четкими неровными контурами, неоднородной структуры. Размеры новообразования 61 × 37 × 42 мм. При доплерографии определяется интранодулярный кровоток венозного и артериального типов. Образование несколько компримирует фрагмент нижней полой вены. Кровоток в нижней полой вене достаточный.

По нижнему контуру новообразования визуализируется гиперэхогенное включение (кальцинат) диаметром около 13 мм с выраженным акустическим усилением.

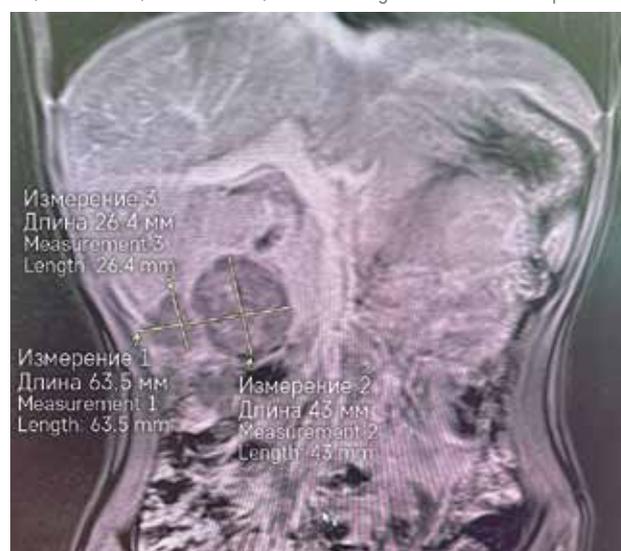
При КТ-исследовании в области V и VI сегментов печени определяется гиподенсивное новообразование мягкотканной плотности, с четкими неровными контурами, неправильной формы, общими размерами 63,5 × 43 × 26,4 мм, плотностью на нативных срезах –7+42 HU, неоднородно накапливающее контрастное вещество до +50+120 HU. Структура новообразования неоднородная за счет наличия кальцината размерами 11 × 9 × 6 мм. Нижняя полая вена на отдельном участке сдавлена опухолью.

Заключение: опухоль правой доли печени, V и VI сегментов (рисунок 1).

Исследование крови на опухолевые маркеры: эмбриональный альфа-фетопротеин (АФП) увеличен до 8053 нг/мл.

Рисунок 1
КТ с контрастным усилением пациентки В. В области правой доли (V и VI сегменты) печени определяется новообразование мягкотканной плотности, с четкими неровными контурами, неправильной формы, общими размерами 63,5 × 43 × 26,4 мм, неоднородно накапливающее контрастное вещество

Figure 1
Contrast-enhanced computed tomography in the patient B. In the right hepatic lobe (segments V and VI), there is soft-tissue neoplasm of irregular shape with sharp uneven contour, 63,5 × 43 × 26,4 mm in size, with heterogeneous contrast uptake



На основании вышеизложенного у ребенка был установлен клинический диагноз: опухоль правой доли печени (гепатобластома? гепатоцеллюлярный рак?) с поражением V–VI сегментов, Pretext II.

После проведенного консилиума врачей, учитывая установленный диагноз, местную распространенность опухолевого процесса, высокие показатели АФП (более 8000 нг/мл), в целях снижения биологической активности опухолевого процесса было решено провести неoadъювантную полихимиотерапию (ПХТ) по протоколу лечения гепатобластомы группы стандартного риска.

Проведено 2 курса ПХТ препаратом цисплатин согласно протоколу лечения. Противоопухолевую ПХТ пациентка перенесла удовлетворительно.

При контрольной КТ зарегистрировано незначительное уменьшение размеров первичной опухоли печени. Уровень АФП снизился до 970 нг/мл.

Учитывая результаты проведенной неoadъювантной ПХТ, решено провести хирургический этап лечения – операцию в объеме резекции V и VI сегментов печени.

11 июля 2023 г. выполнена правосторонняя подреберная лапаротомия с частичным переходом на область левого подреберья, резекция V и VI сегментов печени.

По вскрытии брюшной полости выпота нет. При ревизии патологии со стороны органов живота не выявлено. В правой доле печени на границе V и VI сегментов имеется опухоль размерами до 6 см в диаметре, довольно плотной консистенции, серо-желтого цвета, распространяющаяся в толщу печени (рисунки 2).

Опухоль признана операбельной. Желчный пузырь в опухолевый процесс не вовлечен. Учитывая отсутствие признаков опухолевой инвазии, желчный пузырь решено сохранить. После проведения ультразвукового контроля электроиглой намечены границы резекции печени (рисунки 3).

Методом электрохирургии и с использованием водоструйного диссектора произведена атипичная резекция пораженной части печени в едином блоке с опухолью. Сосуды печени в зависимости от диаметра обрабатывались биполярным пинцетом или коагулятором Vi-Clamp и пересекались. На рисунке 4 представлены этапы операции: вид резецированной ткани печени со стороны диафрагмальной (рисунки 4А) и висцеральной (рисунки 4Б) поверхностей.

Раневая поверхность печени обработана методом аргоноплазменной коагуляции и закрыта гемостатическими пластинами. Вид печени после резекции представлен на рисунке 5.

Послеоперационный период протекал без осложнений.

Рисунок 2

На висцеральной поверхности правой доли печени на границе V и VI сегментов определяется опухоль плотной консистенции, с четкими границами, неровной, узловой поверхностью, располагающейся в непосредственной близости от желчного пузыря

Figure 2

On the visceral surface of the right hepatic lobe, at the border between segments V and VI, there is a dense tumor with sharp contour and uneven nodular surface, immediately adjacent to the gallbladder

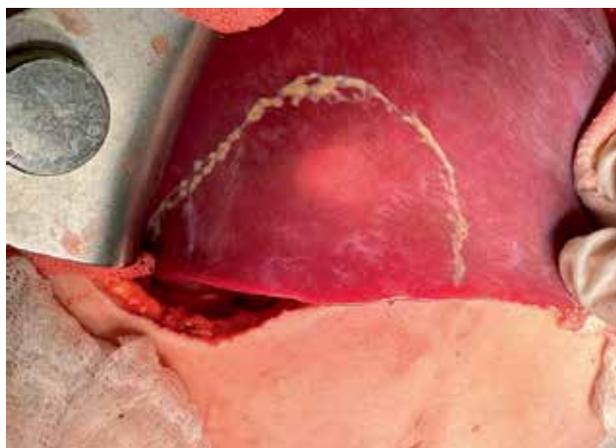


Рисунок 3

На диафрагмальной поверхности печени после ультразвукового контроля электроиглой намечены границы резекции

Figure 3

Using an electric needle under ultrasound guidance, resection margins were marked on the diaphragmatic surface of the liver



На основании данных морфологического анализа и проведенного референса морфологической диагностики в двух федеральных медицинских центрах был установлен диагноз: SH-ГЦК.

Результаты гистологического и иммуногистохимического исследований опухоли (операционный материал)

Микроскопическое описание опухоли: в исследуемом материале ткань печени с ростом неопластической ткани, состоящей из полиморфных клеток с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, одним и несколькими ядрами по типу

Рисунок 4
Вид печени во время резекции со стороны диафрагмальной (А) и висцеральной (Б) поверхностей

Figure 4
The liver during resection as viewed from the diaphragmatic (A) and visceral (B) surfaces

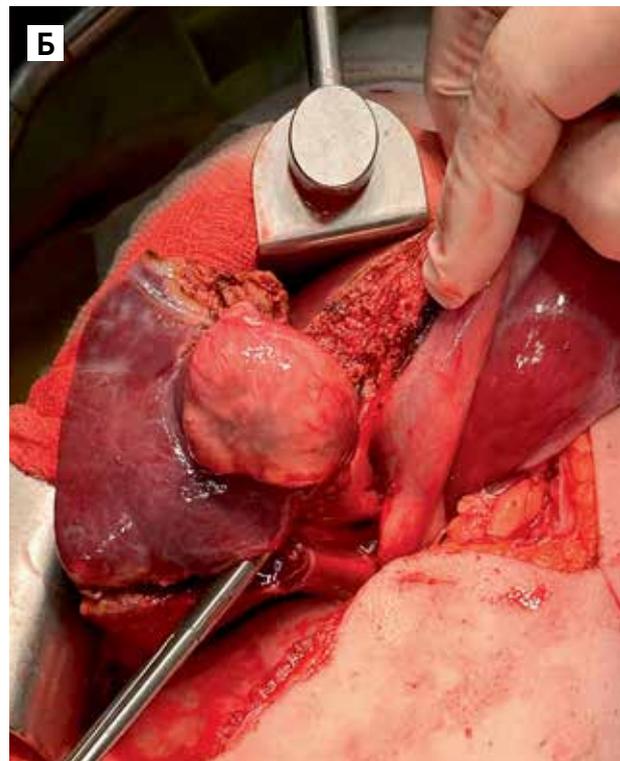
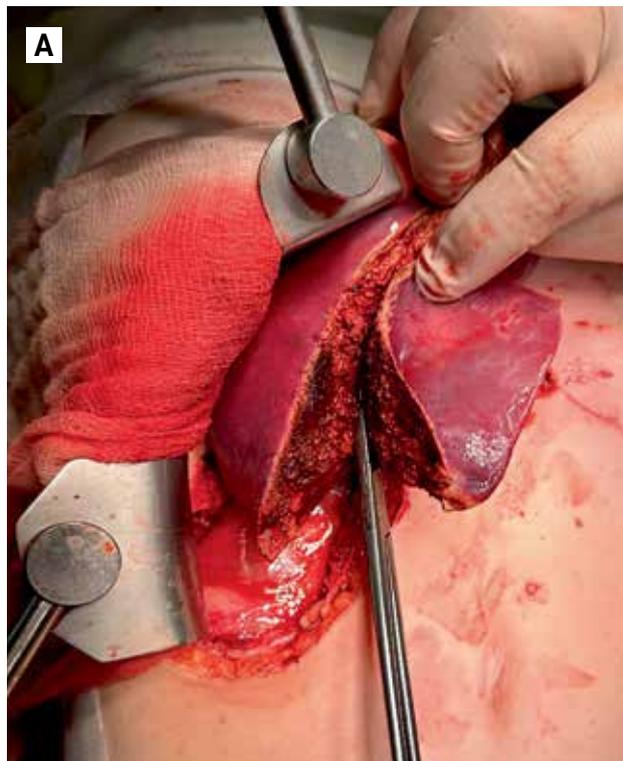


Рисунок 5
Внешний вид печени после резекции. Раневая поверхность обработана аргоноплазменной коагуляцией

Figure 5
The liver after resection. The cut surface was coagulated with argon plasma.

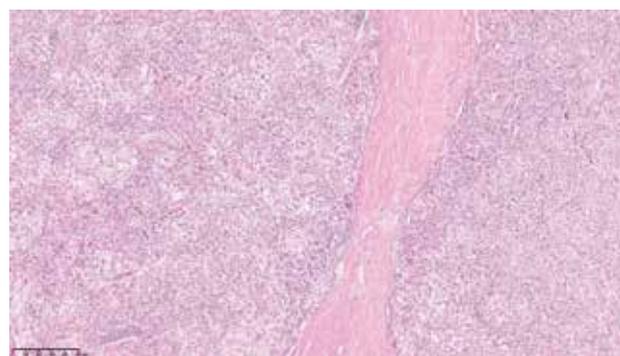


симплов и небольшим ободком амфифильной цитоплазмы. Другая порция клеточного субстрата представлена клетками среднего размера с оптически пустой цитоплазмой. По ходу септ отмечаются фокусы лимфогистиоцитарной инфильтрации и немногочисленные петрификаты (рисунок 6). Края резекции в пределах здоровых тканей (резекция R0).

Заключение: SH-ГЦК.

Рисунок 6
Микроскопическая картина SH-ГЦК. Окраска гематоксилином и эозином, × 5

Figure 6
The microscopic appearance of the steatohepatic hepatocellular carcinoma. Hematoxylin & eosin staining, × 5



При иммуногистохимическом исследовании клетки опухоли позитивны в реакциях с антителами к HSA, Glypican-3 (рисунок 7А), Glutamine synthetase (рисунок 7Б), САМ 5.2, фокально GS и CK8/18 (рисунок 7В).

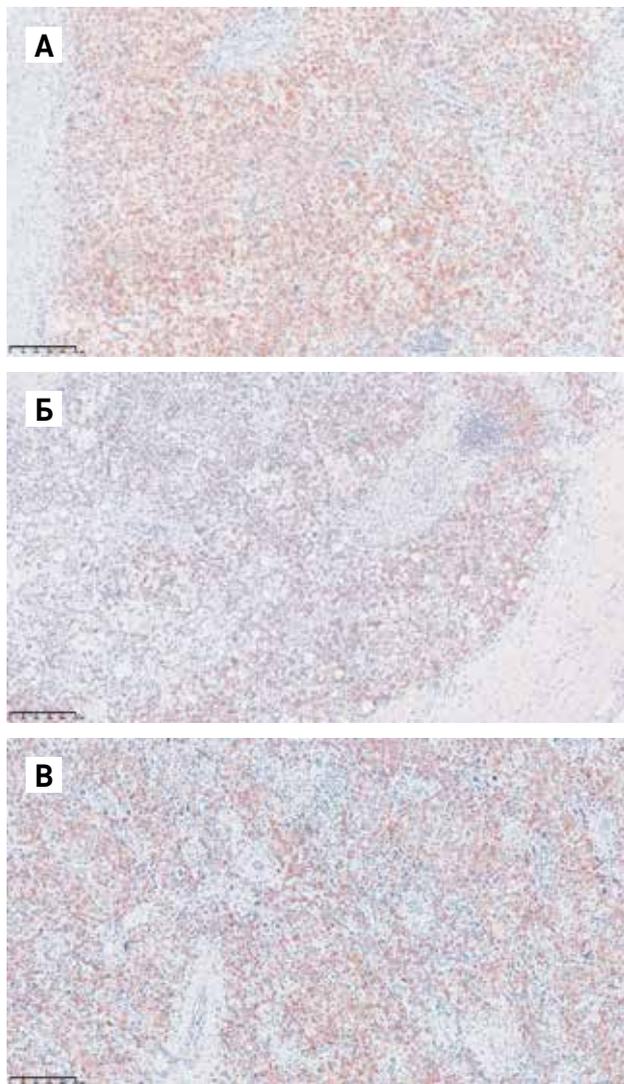
После обсуждения пациентки на консилиуме врачей – детских онкологов, онкохирургов, лучевых и лабораторных диагностов, морфологов, принимая во внимание нормализацию показателей онкомаркеров, отсутствие данных за рецидив заболевания, решено противоопухолевое лечение считать завершенным. Динамическое наблюдение за ребенком будет продолжено.

Рисунок 7

Иммуногистохимическое исследование: клетки опухоли позитивны в реакциях с антителами к HSA, Glypican-3 (А), Glutamine synthetase (Б), CAM 5.2, фокально GS и CK8/18 (В), × 10

Figure 7

Immunohistochemistry: tumor cells are positive for HSA, Glypican-3 (A), Glutamine synthetase (B), CAM 5.2, and focally positive for GS and CK8/18 (B), × 10



К моменту написания данной статьи признаков рецидива опухоли у пациентки нет. Показатели уровня АФП в пределах нормы.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Что же явилось предпосылками для возникновения злокачественной опухоли – SH-ГЦК – у нашей 11-летней пациентки: ожирение и сопутствующий этому метаболический синдром, неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП), результат генетических изменений общих генов или метаболических путей внутри опухоли?

В литературных источниках сообщается, что множественные хронические заболевания печени могут быть связаны с развитием ГЦК, включая

инфекцию, вызванную вирусом гепатита С, HBV, алкогольную болезнь печени и НАЖБП, а также ряд заболеваний с генетической этиологией (тирозинемия 1-го типа, гемохроматоз, недостаточность альфа-1-антитрипсина) [12–15].

Представлены множественные механизмы, лежащие в основе гепатоканцерогенеза, обусловленного ожирением, включая повышенный уровень провоспалительных цитокинов, нарушение регуляции адипокинов, окислительный стресс и стресс эндоплазматического ретикулума, а также изменения в микробиоте кишечника [16].

НАЖБП – известный фактор риска развития ГЦК – стала наиболее распространенным заболеванием печени в западных странах. SH-ГЦК обычно проявляется у пациентов с метаболическими факторами риска и цирротической или нецирротической НАЖБП и имеет многие гистологические особенности, обнаруженные при неалкогольном стеатогепатите. Учитывая их сходные морфологические особенности, отличить SH-ГЦК от фонового ожирения печени может стать диагностической проблемой. Иммуногистохимические исследования для характеристики и помощи в постановке диагноза относительно ограничены. Является ли стеатотический фенотип SH-ГЦК результатом адаптивного ответа опухоли на среду, богатую жирными кислотами, или результатом независимого патогенного пути, еще предстоит выяснить [17].

М.М. Yeh и соавт. провели исследование, целью которого было выявить связь между развитием SH-ГЦК и метаболическим синдромом [18]. Авторы попытались выяснить, верно ли это для всех случаев SH-ГЦК или ее морфология в некоторых случаях отражает генетические изменения, присущие самой ГЦК, в отличие от широкого тканевого ответа печени на метаболический синдром. Были идентифицированы и исследованы 12 случаев SH-ГЦК у лиц без метаболического синдрома. В подгруппе был проведен анализ геномных микрочипов. Результаты выполненного исследования показали, что при ГЦК также может развиваться стеатогепатическая морфология вне рамок жировой болезни печени или метаболического синдрома. Такая SH-ГЦК с большей вероятностью является результатом генетических изменений общих генов или метаболических путей внутри опухоли и идеальным подтипом для будущих генетических исследований. В связи с этим потенциальные генетические изменения включают потерю 9q12–q31.1 [18].

Лабораторные исследования

В целях исключения метаболического синдрома ребенку были выполнены исследования крови и мочи на определение органических кислот, липидов.

Анализ проводился методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием с использованием масс-спектрометра SciexQTRAP 5500 в сочетании с высокоэффективным жидкостным хроматографом Waters.

Количественное определение органических кислот в моче проводилось в 2 этапа. Пробоподготовка мочи для анализа кетокислот включала в себя разведение и последующую дериватизацию метил-гидроксиаламином гидрохлоридом или фенилгидразином. Для анализа остальных кислот проводилось только разведение мочи до необходимой концентрации.

Уровень омега-3-полиненасыщенных жирных кислот в эритроцитах крови оценивался методом газовой хромато-масс-спектрометрии. Для анализа была взята периферическая кровь из вены в количестве 3 мл в сиреневую пробирку с этилендиаминтетрауксусной кислотой. Для анализа использовались предварительно выделенные эритроциты и проводилась дериватизация жирных кислот до метиловых эфиров. Затем образец экстрагировался гексаном и упаривался в токе азота. Растворенный гептаном сухой остаток, содержащий метиловые эфиры жирных кислот, анализировался с помощью газового tandemного хромато-масс-спектрометра ShimadzuTQ8050. Исследования проведены после хирургического этапа лечения.

Пациентке был проведен двукратный хроматографический анализ органических кислот в моче после успешно проведенной операции с интервалом в 1 мес. Первый результат показал незначительное повышение 2-кетоглутаровой кислоты (52,0 ммоль/моль креатинина, референсные значения 3,0–35,5 ммоль/моль), 3-метил-2-оксовалериановой кислоты (1,66 ммоль/моль креатинина, референсные значения 0,00–1,50 ммоль/моль) и себаценовой кислоты (0,24 ммоль/моль креатинина, норма < 0,22 ммоль/моль). Концентрация остальных органических кислот была в пределах референсных значений. Во втором результате обнаружилось повышение только 2-кетоглутаровой кислоты (48,8 ммоль/моль креатинина), остальные показатели были в пределах нормальных значений.

Результаты хроматографического анализа омега-3-полиненасыщенных жирных кислот в эритро-

цитах крови показали повышение индекса отношения арахидоновой к эйкозапентаеновой кислоте (59,9, нормальные значения 4,0–50,0), остальные параметры были в пределах нормы.

Таким образом, специфических метаболических нарушений у пациентки не выявлено, что может говорить о том, что она находится в стадии ремиссии. Анализ же липидного профиля эритроцитарной мембраны показывает незначительное увеличение индекса отношения арахидоновой к эйкозапентаеновой кислоте, что также исключает нарушения метаболизма жирных кислот, но может указывать на наличие воспалительных реакций.

В целом данные анализы показывают, что у пациентки не выявляются признаки метаболического синдрома.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленное клиническое наблюдение является первым описанием SH-ГЦК у ребенка. Несмотря на уникальность клинического случая, врачам-детским онкологам следует знать, что не только у взрослых, но и у детей может регистрироваться SH-ГЦК, который не связан с ожирением и метаболическим синдромом. Это положение заставляет предположить, что при ГЦК также может развиваться стеатогепатическая морфология вне рамок жировой болезни печени или метаболического синдрома. В данном клиническом случае SH-ГЦК может быть ассоциирован с еще неизученными генетическими вариантами, ассоциированными с маркерами воспаления (воспалительные цитокины) и маркерами окислительного стресса.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор статьи подтвердил отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Sharoev T.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1898-3068>

Mamedov I.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0783-2873>

Zhilina S.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2400-0748>

Perevesentsev O.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7070-3209>

Skobeev D.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6446-9201>

Zolkina I.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2117-386X>

Tkacheva M.I. ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-6062-9064>

Литература / References

1. Kelly D., Sharif K., Brown R.M., Morland B. Hepatocellular carcinoma in children. *Clin Liver Dis* 2015; 19 (2): 433–47. DOI: 10.1016/j.cld.2015.01.010
2. Digiacomo G., Pia Serra R., Turrini E., Tiri A., Cavazzoni A., Alfieri R., Bertolini P. State of the art and perspectives in pediatric hepatocellular carcinoma. *Rev Biochem Pharmacol* 2023; 207: 115373. DOI: 10.1016/j.bcp.2022.115373
3. Ахаладзе Д.Г., Рабаев Г.С. Гепатоцеллюлярный рак у детей – основные отличия от взрослых паци-

- ентов. *Анналы хирургической гепатологии* 2020; 25 (4): 85–94. DOI: 10.16931/1995-5464.2020485-94 [Akhaladze D.G., Rabaev G.S. Pediatric hepatocellular carcinoma – the main differences from adult patients. *Annals of HPB surgery* 2020; 25 (4): 85–94. (In Russ.)].
4. Czauderna P., Mackinlay G., Perilongo G., Brown J., Shafford E., Aronson D., et al. Liver Tumors Study Group of the International Society of Pediatric Oncology. Hepatocellular carcinoma in children: results of the first prospective study of the International Society of Pediatric Oncology group. *J Clin Oncol* 2002; 20 (12): 2798–804. DOI: 10.1200/JCO.2002.06.102
 5. Litten J.B., Tomlinson G.E. Liver tumors in children. *Oncologist* 2008; 13 (7): 812–20. DOI: 10.1634/theoncologist.2008-0011
 6. Aronson D.C., Meyers R.L. Malignant tumors of the liver in children. *Semin Pediatr Surg* 2016; 25 (5): 265–75. DOI: 10.1053/j.sempedsurg.2016.09.002
 7. Khanna R., Verma S.K. Pediatric hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2018; 24 (35): 3980–99. DOI: 10.3748/wjg.v24.i35.3980
 8. Sergi C.M. Carcinoma of the Liver in Children and Adolescents. In: *Liver Cancer* [Internet]. Brisbane (AU): Exon Publications; 2021 Apr 6. Chapter 1. DOI: 10.36255/exonpublications.livercancer.2021.ch1
 9. WHO Classification of Tumors Editorial Board. *Digestive system tumors*. 5th ed. Lyon: IARC; 2019.
 10. Непомнящая Е.М., Шапошников А.В., Юрьева Е.А. Гепатоцеллюлярная карцинома – новые положения классификации ВОЗ 2019, 5-е издание. *Архив патологии* 2020; 82 (6): 36–40 DOI: 10.17116/patol20208206136 [Nepomnyashchaya E.M., Shaposhnikov A.V., Yurieva E.A. Hepatocellular carcinoma: new provisions of the WHO classification, 5th edition, 2019. *Russian Journal of Archive of Pathology* 2020; 82 (6): 36–40. (In Russ.)].
 11. WHO Classification of the Digestive System Tumours. 4th ed. Lyon: IARC; 2010.
 12. Chalasani N., Younossi Z., Lavine J.E., Charlton M., Cusi K., Rinella M., et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2018; 67 (1): 328–57. DOI: 10.1002/hep.29367
 13. Ларшина Е.А., Милованова Н.В., Каменец Е.А. Недостаточность альфа-1-антитрипсина: диагностика и лечение (обзор литературы). *Медицинская генетика* 2021; 20 (1): 12–24. DOI: 10.25557/2073-7998.2021.01.12-24 [Larshina E.A., Milovanova N.V., Kamenets E.A. Alpha-1-antitrypsin deficiency: diagnosis and treatment (literature review). *Medical Genetics* 2021; 20 (1): 12–24. (In Russ.)].
 14. Винокурова Л.Н., Шадрина В.В., Фурман Е.Г., Черемных Л.И., Прозументик В.Р. Тирозинемия IB типа с поражением печени и почек у 5-летнего ребенка. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология* 2018; 156 (8): 140–5. [Vinokurova L.N., Shadrina V.V., Furman E.G., Cheremnyh L.I., Prozumentik V.R. Tyrosinemia type B liver and kidney have a 5-year-old child. *Experimental and Clinical Gastroenterology* 2018; 156 (8): 140–5. (In Russ.)].
 15. Некрасова Т.П., Берестова А.В. Значение биопсии печени в диагностике наследственного гемохроматоза. *Архив патологии* 2019; 81 (1): 35–9. DOI: 10.17116/patol20198101135 [Nekrasova T.P., Berestova A.V. Value of liver biopsy in the diagnosis of hereditary hemochromatosis. *Russian Journal of Archive of Pathology*. 2019; 81 (1): 35–9. (In Russ.)].
 16. Fujiwara N., Nakagawa H., Enooku K., Kudo Y., Hayata Y., Nakatsuka T., et al. CPT2 downregulation adapts HCC to lipid-rich environment and promotes carcinogenesis via acylcarnitine accumulation in obesity. *Gut* 2018; 67 (8): 1493–504.
 17. Morgan Olofson A., Gonzalo D.H., Changa M., Liua X. Steatohepatic Variant of Hepatocellular Carcinoma: A Focused Review. *Gastroenterol Res* 2018; 11 (6): 391–6. DOI: 10.14740/gr1110
 18. Yeh M.M., Liu Y., Torbenson M. Steatohepatic variant of hepatocellular carcinoma in the absence of metabolic syndrome or background steatosis: a clinical, pathological, and genetic study. *Hum Pathol* 2015; 46 (11): 1769–75. DOI: 10.1016/j.humpath.2015.07.018

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 11.12.2023
Принята к печати 22.10.2024



EDN: TKLZDD

Контактная информация:

Нечипуренко Дмитрий Юрьевич,
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: dmitry.nechipurenko@dgoi.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-152-160

Роль тромбоцитов в процессах тромбовоспаления

Е.А. Мельникова¹, Н.С. Емельянов², Д.Ю. Нечипуренко¹⁻³¹ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН, Москва²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Взаимодействия между тромбоцитами, лейкоцитами и эндотелиальными клетками играют важную роль в различных физиологических и патофизиологических процессах. Хотя основная функция тромбоцитов заключается в остановке кровотечения, исследования последних лет пролили свет на их роль во многих других процессах, главным образом в иммунных реакциях. Лейкоциты как ключевые участники воспалительных процессов активно взаимодействуют как с тромбоцитами, так и с эндотелиальными клетками, тем самым реализуя связь между гемостатическим ответом и локальным воспалением. Эндотелий, в свою очередь, активно участвует как в регуляции гемостаза, так и в воспалительных процессах. В норме эти взаимодействия способствуют борьбе с патогенами, правильному течению воспаления и восстановлению тканей. Однако нарушение их регуляции может приводить к развитию патологий, включая атеросклероз, тромбозы, воспалительные заболевания и осложнения, возникающие вследствие инфекций. В последние годы развитие широкого круга патологий ассоциируется с процессами тромбовоспаления и иммунотромбоза, механизмы которых являются предметом активных исследований. Данный обзор посвящен описанию современной картины тромбовоспаления через соответствующие молекулярные и клеточные взаимодействия, лежащие в его основе. Более глубокое понимание роли тромбоцитов в регуляции воспалительных реакций способно не только улучшить наше понимание взаимосвязи между гемостатическим ответом и иммунными реакциями, но и помочь определить новые терапевтические мишени и стратегии для многих серьезных патологий: от тромбозов до нейродегенеративных заболеваний.

Ключевые слова: тромбоциты, тромбоз, гемостаз, воспаление, тромбовоспаление, нейтрофилы, лейкоциты

Мельникова Е.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 152–60. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-152-160

The role of platelets in thromboinflammation

Е.А. Melnikova¹, N.S. Emelyanov², D.Yu. Nechipurenko¹⁻³¹Center for Theoretical Problems of Physical and Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow²M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow³The Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Interactions between platelets, leukocytes and endothelial cells play an important role in various physiological and pathophysiological processes. Although the primary function of platelets is to stop bleeding, recent studies have shed some light on their role in many other processes, mainly, in immune reactions. As the key participants of all inflammatory processes, leukocytes interact both with platelets and endothelial cells linking hemostatic response and local inflammation. In its turn, endothelium is actively involved both in hemostasis regulation and inflammation. In normal conditions, these interactions help fight off pathogens and facilitate the normal process of inflammation and restoration of tissues. However, their dysregulation may result in various disorders including atherosclerosis, thrombosis, inflammation and post-infection complications. In recent years, the development of a wide array of disorders has come to be associated with thromboinflammation and immunothrombosis, whose mechanisms have become the focus of many ongoing studies. In this review, we describe thromboinflammation through its underlying molecular and cell interactions. A better comprehension of the role of platelets in the regulation of inflammatory response will not only improve our understanding of the correlation between hemostatic response and immune reactions but will also help identify new therapeutic targets and strategies for many serious disorders ranging from thrombosis to neurodegenerative diseases.

Key words: thrombocytes, thrombosis, hemostasis, inflammation, thromboinflammation, neutrophils, leukocytes

Melnikova E.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 152–60.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-152-160

Образование гемостатического тромба – это динамичный физиологический процесс, основной функцией которого является своевременная остановка кровотечения при повреждении сосуда. Патологическое тромбообразование (тромбоз) может приводить к большому количеству серьезных осложнений, вызванных гипоксией соответствующих тканей организма [1]. Однако традиционный взгляд на тромбоз как на чисто гемостатическое явление в последние годы суще-

ственно изменился [2, 3]. Известно, что патофизиология ряда жизнеугрожающих состояний, таких как сепсис, реперфузионная травма, тяжелая травма, серьезный ожог и др., связана не только с активным формированием тромбов в микрососудах, но и с системным и/или локальным воспалением. Данное плохо изученное явление связано со взаимной активацией нескольких физиологических систем, в первую очередь гемостаза и иммунитета, и потому получило название «тромбовоспаление» [4]. В этом

контексте образование тромбов является не просто следствием повреждения сосудов, но и тесно переплетено с иммунными и воспалительными реакциями организма [5, 6]. В настоящее время молекулярные и клеточные механизмы тромбовоспалительных процессов являются объектом активных исследований. В последние годы все большее внимание в изучении механизмов тромбовоспаления уделяется тромбоцитам – центральным элементам клеточного звена гемостаза, которые не только играют активную роль в нормальном и патологическом тромбообразовании, но и активно регулируют локальные воспалительные процессы. Этот сдвиг парадигмы подчеркивает важность исследования тромбообразования с более широкой точки зрения, рассматривающей воспалительный компонент как неотъемлемую часть процесса [7]. Данный обзор ставит своей целью описать и систематизировать сложные связи между первичным гемостатическим ответом и воспалением для воссоздания общей картины этих взаимодействий и их роли в норме и патологии.

Тромбоцитарные рецепторы и их роль в воспалении

Тромбоциты – ключевые участники гемостаза, тромбоза и тромбовоспаления. Эти безъядерные компоненты крови экспрессируют на своей мембране множество рецепторов, которые позволяют тромбоцитам реагировать на широкий спектр сигналов. Образование тромбов при повреждении сосуда неразрывно связано с воспалительным ответом, и недавнее рассмотрение роли тромбоцитов как сигнальных клеток врожденного иммунитета показывает, что они обеспечивают уникальную связь между гемостатическим ответом и иммунными реакциями [8–12].

Первая стадия формирования тромба – адгезия тромбоцитов к поверхности активированных/поврежденных клеток эндотелия или белкам субэндотелиального матрикса – в условиях артериальных скоростей течения происходит за счет связывания мультимеров фактора фон Виллебранда (VWF) с комплексом гликопротеина (GP) Ib-IX-V на тромбоцитах. Кроме того, VWF играет значительную роль в привлечении лейкоцитов к растущему тромбу, так как содержит сайт связывания интегрина Mac-1, экспрессируемого нейтрофилами и моноцитами, в свою очередь, усиливая связь между гемостазом и воспалением [13]. Также было показано, что при воспалении присутствие мультимеров VWF и доступность GPIb на тромбоцитах существенно увеличивают эффективность выхода лейкоцитов в ткани [14]. Блокирование первичной адгезии тромбоцитов у мышей уменьшало тромбовоспаление и улучшало исход ишемического инсульта, не увеличивая риск внутримозгового кровоизлияния [13].

Одним из ключевых игроков в тромбовоспалении является трансмембранный белок P-селектин. Он находится на поверхности α -гранул тромбоцитов и перемещается на плазматическую мембрану при их секреции. P-селектин взаимодействует со своим лигандом, гликопротеиновым лигандом P-селектина-1 (PSGL-1) на лейкоцитах, и данное взаимодействие не только способствует привлечению лейкоцитов к месту повреждения сосудов, но также инициирует сложные сигнальные каскады в обоих типах клеток, усиливая провоспалительную реакцию [2].

Другим рецептором, участвующим в усилении воспалительного ответа через тромбоцитарное звено гемостаза, является G-белок-ассоциированный P2Y₁₂-рецептор, который не только определяет агрегацию тромбоцитов в ответ на аденозиндифосфат (АДФ), но также может резко усиливать секрецию гранул тромбоцитами при их активации другими стимулами [15]. Было показано, что P2Y₁₂ необходим для провоспалительного действия LTE₄ и является потенциальной терапевтической мишенью [16]. LTE₄ – единственный стабильный и широко распространенный *in vivo* представитель семейства цистеинил лейкотриенов – липидных медиаторов воспаления, генерируемых *in vivo* тучными клетками, эозинофилами, миелоидными дендритными клетками, базофилами и макрофагами [17]. Эти соединения играют важную роль при воспалении слизистых оболочек, астме у человека [18, 19] и являются важными медиаторами иммунного ответа в мышечных моделях воспаления легких, ремоделирования тканей и фиброза [20, 21]. Более того, учитывая, что активация P2Y₁₂-рецепторов стимулирует синтез противовоспалительного цитокина интерлейкин (IL)-10 моноцитами, воздействие на P2Y₁₂ является потенциально новым подходом к иммуномодуляции [22, 23]. Исследования показывают, что блокирование P2Y₁₂-рецепторов может значительно снижать интенсивность иммунного ответа [15, 24].

Toll-подобные рецепторы (TLR) экспрессируются на поверхности и в цитоплазме различных клеток, связанных с иммунитетом, и играют центральную роль во врожденном иммунитете. Они служат мембранными рецепторами для патогенов, играя значительную роль в фагоцитозе и воспалении. TLR на тромбоцитах запускают внутриклеточные сигнальные пути, которые завершаются секрецией провоспалительных цитокинов и хемокинов. Примечательно, что активация TLR4 на тромбоцитах такими молекулами, как липополисахариды (LPS) (на мембранах грамотрицательных бактерий), может спровоцировать мощную провоспалительную реакцию, подчеркивая способность тромбоцитов непосредственно детектировать микробные инфекции и способствовать защите организма [25].

Было показано, что тромбоциты экспрессируют TLR1–9, при этом некоторые TLR действуют как преобразователи сигналов. Примечательно, что TLR4 выделяется как классический инициатор врожденных иммунных ответов [26, 27]. В процессе сепсиса активация TLR4 тромбоцитов запускает ранее упомянутое взаимодействие тромбоцитов и нейтрофилов, что приводит к образованию внеклеточных ловушек нейтрофилов (NET) и последующему захвату бактерий [28]. Более того, TLR2 тромбоцитов обладает способностью индуцировать экспрессию P-селектина и активацию GPIIb/IIIa, одновременно генерируя активные формы кислорода, которые могут оказывать прямое противомикробное действие [29]. Кроме того, стимуляция тромбоцитарного TLR7 приводит к усилению экспрессии P-селектина и CD154, что подразумевает селективное высвобождение содержимого α -гранул [30]. Эти наблюдения подчеркивают сложную роль TLR тромбоцитов в модуляции различных аспектов тромбовоспалительной реакции: от взаимодействия с лейкоцитами до прямой антимикробной активности, в зависимости от конкретного вовлеченного TLR.

Кроме того, тромбоциты экспрессируют специальные рецепторы, такие как CD40 (CD40L), которые позволяют им дополнительно взаимодействовать с иммунными и эндотелиальными клетками, запуская провоспалительный каскад [31, 32] и регулируя активность дендритных клеток и Т-лимфоцитов [33]. Эти взаимодействия способствуют активации лейкоцитов, высвобождению медиаторов воспаления и экспонированию молекул адгезии на эндотелиальных клетках, что в совокупности усиливает тромбовоспалительную реакцию. Также было показано, что Fas-лиганд на тромбоцитах отвечает за запуск апоптоза в поврежденных тканях [34], что еще раз подчеркивает роль тромбоцитов в гомеостазе тканей.

Инфламмосома NLRP3 и ее роль в воспалении

В течение последнего десятилетия стало ясно, что тромбоциты могут координировать врожденный иммунный ответ с помощью нескольких механизмов, включая инфламмосомозависимую выработку IL-1 β [12, 35, 36] – мощного провоспалительного цитокина.

Инфламмосома NLRP3 представляет собой белковый комплекс, экспрессируемый в иммунных клетках и тромбоцитах, который состоит из рецептора распознавания паттерна NLRP3, апоптоз-ассоциированного Speck-подобного белка, содержащего C-концевой домен рекрутирования каспазы, каспазу-1 и тирозинкиназу Брутона (ткБ) [37–42]. Активация инфламмосомы NLRP3 повышает активность каспазы-1 и запускает выработку IL-1 β и других провоспалительных цитокинов [38].

E.D. Hottz и соавт. [37] предположили, что IL-1 β из тромбоцитов в основном высвобождается в виде микрочастиц посредством механизмов, запускаемых инфламмосомами NLRP3 и зависящих от митохондриальных активных форм кислорода. Также было показано, что IL-1 β локализован в цитозоле тромбоцитов, открытой канальцевой системе и на периферии α -гранул [43]. Существуют данные о связи количества тромбоцитов и уровня IL-1 β в плазме [44]. Активация воспаления и выделение тромбоцитами IL-1 β коррелируют с повышением проницаемости сосудов [37]. Однако механизмы, участвующие в распознавании и секреции IL-1 β тромбоцитами, все еще недостаточно изучены.

P. Murthy и соавт. [38] показали, что экспрессия P-селектина и агрегация тромбоцитов помимо классических механизмов регулируются инфламмосомой NLRP3 и сигнальным путем HMGB1/TLR4/sGC [12] в тромбоцитах. Они также продемонстрировали значение ткБ в регуляции тромбообразования *in vitro* и обнаружили функционально активную связь между ткБ и NLRP3.

Интересно, что выработка IL-1 β тромбоцитами также влияет на формирование тромбов [10]. Результаты исследований показали, что NLRP3-зависимое влияние IL-1 β на рост тромбов возникает за счет его связывания с рецептором IL-1R на поверхности тромбоцитов и последующего усиления передачи так называемых *outside-in* сигналов (внутриклеточных сигналов, индуцированных связыванием активных интегринов со своим лигандом вне клетки), что, в свою очередь, приводит к стабилизации агрегата [36]. В FeCl₃ модели тромбоза IL-1 β в значительных количествах обнаруживался в богатых тромбоцитами сгустках, что предшествовало накоплению лейкоцитов в местах поражения. Это может указывать на критическую роль тромбоцитарного IL-1 β на ранних стадиях тромбоза *in vivo* [45].

Также было показано, что дефицит NLRP3 в мышинных тромбоцитах значительно снижает распластывание тромбоцитов на фибриногене и нарушает ретракцию сгустка [36]. Добавление IL-1 β восстанавливает нарушенные процессы, что предполагает прямое влияние его выработки на сигнальные пути тромбоцитарного интегрин α IIb β 3 [36]. NLRP3 также является важным медиатором пироптоза (формы программируемой клеточной смерти, зависимой от каспазы-1), который характеризуется фрагментацией ДНК в клетках врожденного иммунитета и приводит к воспалению [46]. Недавно на дендритных клетках костного мозга было показано, что NLRP3 контролирует как пироптоз, так и апоптоз через каспаза-8-зависимый механизм [47]. Это позволяет предположить, что сигнальные пути, индуцируемые сборкой инфламмосомы NLRP3, могут играть важную

роль в формировании прокоагулянтной субпопуляции тромбоцитов.

Основные механизмы взаимодействия тромбоцитов и нейтрофилов

Считается, что взаимодействие между тромбоцитами и нейтрофилами может играть важную роль в координации гемостатического ответа и процессов воспаления. Этому направлению исследований в последнее время уделяется повышенное внимание, что позволило пролить свет на роль взаимодействия тромбоцитов с нейтрофилами в различных физиологических и патологических процессах [48, 49].

Важное место во взаимодействии тромбоцитов и нейтрофилов занимает феномен NET. Эти сети, включающие в себя хроматин (который главным образом состоит из ДНК, РНК и гистонов), и белки, способствующие уничтожению бактерий (эластаза нейтрофилов, катепсин G, миелопероксидаза и др.), выбрасываются нейтрофилами для улавливания и нейтрализации патогенов [50]. Однако NET также вовлечены в развитие некоторых патологий, включая тромботические [51].

Взаимодействию между тромбоцитами и нейтрофилами способствуют молекулы на поверхности клеток. В частности, P-селектин на тромбоцитах и PSGL-1 на нейтрофилах: как было отмечено выше, связывание P-селектина и PSGL-1 играет ключевую роль в обеспечении адгезии между этими клетками, способствуя образованию тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов [52].

Было показано, что помимо классических агонистов взаимодействие с TLR тромбоцитов индуцирует высвобождение NET. Это явление возникает в ответ на различные стимулы, включая стимуляцию TLR4 LPS, активацию TLR2 тромбоцитов в ответ на Pam3CSK4 (синтетический лиганд TLR2/TLR1) и стимуляцию TLR7 в тромбоцитах, инфицированных вирусом гриппа (IAV). Эти результаты подчеркивают способность тромбоцитов индуцировать образование NET посредством взаимодействия со специфическими рецепторами. Также было обнаружено, что GPIIb α на тромбоцитах – хорошо изученный компонент комплекса GPIIb α -IX-V, играющий важную роль в гемостазе и тромбозе, связывается с Mac-1 на нейтрофилах, чем запускает их активацию и высвобождение NET [53, 54]. Кроме того, еще один важный в гемостазе и тромбозе рецептор – интегрин α IIb β 3 на тромбоцитах также опосредует NETоз, связываясь с Mac-1 нейтрофилов через фибриноген [52, 53].

Как было отмечено выше, взаимодействие тромбоцитов и нейтрофилов выходит за рамки простой адгезии. Оно включает в себя сложные сигнальные каскады, которые могут приводить к разнообразным функциональным ответам. Например, адгезия,

опосредованная P-селектином, запускает активацию β 2-нейтрофильных интегринов и их кластеризацию, что улучшает адгезию нейтрофилов к эндотелию, тромбоцитам и другим клеткам [55–57]. Кроме того, нейтрофилы реагируют на контакт с тромбоцитами секрецией матриксной металлопротеиназы-9, миелопероксидазы и транслокацией β 2-интегрин CD11b из гранул нейтрофилов на их поверхность [58]. Все эти процессы вносят вклад в сложное взаимодействие тромбоцитов и нейтрофилов [54].

Тромбоциты не только активируют образование NET, но и влияют на поведение нейтрофилов. Известно, что активированные тромбином тромбоциты индуцируют транслокацию транскрипционного фактора NF- κ B в ядро нейтрофилов, что приводит к повышению секреции провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 β , TNF- α , IL-8 и моноцитарного хемоаттрактантного белка-1. Кроме того, на взаимодействие тромбоцитов и моноцитов и моноцитарные ответы влияет активация CD36 тромбоцитов – мультилигандного рецептора, который распознает специфические окисленные фосфолипиды, молекулы, экспрессируемые на микробных патогенах, апоптотических клетках и микрочастицах клеточного происхождения. Исследования показали, что связывание CD36 с окисленными липопротеинами низкой плотности или микрочастицами активирует специфический сигнальный путь, который индуцирует активацию тромбоцитов [59].

NET играют значительную роль в тромбозе. Эти структуры в большом количестве присутствуют в венозных тромбах и способствуют их образованию [60]. NET стимулируют сборку инфламмосомы в тромбоцитах, что может приводить к усилению тромбовоспалительных реакций. Было обнаружено, что в условиях воспаления в высвобождаемых нейтрофилами NET находится тканевый фактор [61, 62], что еще больше усиливает их протромботический потенциал [63].

Таким образом, взаимодействие между тромбоцитами и нейтрофилами включает в себя адгезию, запуск сигнальных каскадов и высвобождение NET, что, в свою очередь, регулирует различные физиологические и патологические процессы. Понимание этих взаимодействий дает ценную информацию о сложной динамике тромбовоспаления и его роли в норме и патологии.

Взаимодействие тромбоцитов с системой комплемента

Система комплемента является важной составляющей иммунитета [64]. Она имеет несколько возможных путей активации: классический, лектиновый и альтернативный. Классический путь активируется иммуноглобулинами (IgG, IgM) [65]. Белковый

комплекс C1, состоящий из белков C1s, C1r, C1q, взаимодействует с кристаллизирующимся фрагментом иммуноглобулина, что приводит к его активации. Триггером для лектинового пути являются мембраны патогенов, таких как грибки, бактерии, различные эукариотические паразиты и вирусы. Маннозосвязывающий лектин (МСЛ) и фиколин присоединяются к углеводам на поверхности мембраны, что приводит к конформационным изменениям, которые ведут к активации МСЛ-ассоциированного белка-2, циркулирующего в крови вместе с МСЛ [65, 66]. Белки, полученные в ходе вышеописанных реакций, расщепляют факторы системы комплемента C4 и C2 до их активных форм C4a, C2b. Эти молекулы образуют C3-конвертазу. Альтернативный путь так же, как и классический, задействуется чужеродной поверхностью. С ее помощью фактор C3 гидролизует, что делает возможным присоединение к нему вспомогательного фактора В. Фактор В расщепляется вспомогательным фактором D, что приводит к образованию C3-конвертазы [65].

C3-конвертаза, полученная в результате любого из путей активации, расщепляет фактор C3 на C3a (анафилотоксин) и C3b (опсонин), способствующий фагоцитозу. Также C3b присоединяется к C3-конвертазе, в результате чего образуется C5-конвертаза, которая, в свою очередь, расщепляет на активные составляющие C5a и C5b фактор C5. C5a также является анафилотоксином. Появление C5b на мембране клетки провоцирует сборку мембраноатакующего комплекса C5bC6C7C8C9, что приводит к лизису цели.

Тромбоциты тесно связаны с системой комплемента, что проявляется во многих взаимодействиях двух систем. Например, было обнаружено, что факторы системы комплемента C3 и C5 влияют на время кровотечения у мышей [67]. Причем время первичного кровотечения у C3-/- мышей было больше, чем у контрольной группы. У C5-/- мышей время до первого прекращения кровотечения не отличалось от контроля, однако время прекращения повторных кровотечений было значительно больше. Из этого можно сделать вывод, что C3 влияет на первичный гемостаз, а C5 – на стабильность тромба. Также было обнаружено, что тромбоциты C3-/- мышей, активированные агонистом GPVI, на своей поверхности имеют меньшее количество связанных мультимеров VWF, что интерпретируется как следствие низкого уровня активации эндотелия, активированных интегринов $\alpha IIb\beta 3$, пониженный уровень экспрессии P-селектина и экспонирования прокоагулянтных фосфолипидов, чего у C5-/- мышей не было обнаружено. В свою очередь, недостаток C5 оказывает влияние на формирование фибринового сгустка.

В другом исследовании авторы попытались раскрыть детали механизма активации тромбоцитов факторами комплемента [68]. Было показано, что *in vitro* активация комплемента не влияет напрямую на такие параметры системы гемостаза, как количество тромбоцитов, концентрации тромбина/анти-тромбина, CD40L и VWF, однако вызывает ответ иммунной системы. Также вопреки ранее полученным данным [69] авторы не обнаружили прямого влияния продуктов активации системы комплемента на активацию тромбоцитов, несмотря на экспрессию рецепторов анафилотоксинов C3a и C5a на мембранах активированных тромбоцитов. Можно предположить, что активация тромбоцитов может быть вызвана молекулами АДФ, которые при активации системы комплемента попадают в кровь из-за лизиса клеток мембраноатакующим комплексом. Такой сценарий был продемонстрирован с помощью лизиса эритроцитов при их добавлении в кровь несовместимой группы: данный процесс сопровождался активацией тромбоцитов [68].

Также было показано, что активация тромбоцитов оказывает влияние на систему комплемента различными способами. Во-первых, было продемонстрировано присутствие в мегакариоцитах и тромбоцитах мРНК, соответствующей белкам C3 и C5 [70]. Кроме того, в гранулах тромбоцитов был также обнаружен плазменный C3, несколько отличающийся своим размером от мегакариоцитарного. Причем тромбоцитарный C3 высвобождается только после активации тромбоцитов в модели сепсиса посредством введения в кровь *E. Coli*, а активация путем тромбина или АДФ на него не влияет. В другой статье, где изучалась роль тромбоцитов в активации иммунного ответа на вирус гриппа [71], было продемонстрировано, что вирус гриппа также способен вызывать выброс C3 из α -гранул тромбоцитов после взаимодействия рецептора TLR7 с вирионами. Также была описана активация комплемента через тромбоциты грибом *Aspergillus* [72]. Следует также отметить и классический путь активации: известно, что поверхность прокоагулянтных тромбоцитов, богатая фосфатидилсеринном, является скаффолдом для фосфорилирования фактора C3, после которой улучшается прикрепление его продуктов расщепления к иммуноглобулинам, что способствует опсонизации [73, 74].

Взаимодействие тромбоцитов и системы комплемента в процессе тромбовоспаления играет важную роль в реакции организма на различные заболевания. Например, в недавней статье была продемонстрирована роль такого взаимодействия в протекании острой почечной недостаточности [75]: чрезмерная активация системы комплемента тромбоцитами обостряет течение болезни. Также широко известна роль этих взаимосвязей в развитии атипич-

ного гемолитико-уремического синдрома [76, 77], пароксизмальной ночной гемоглобинурии [78, 79], тромбоэмболий [80], они вносят свой вклад в развитие атеросклероза [81] и в реакции организма на тяжелые травмы [82].

Тромбоциты и активация фактора свертывания XII

Помимо взаимодействий с системой комплемента тромбоциты тесно связаны с каскадом свертывания крови [83], что также играет важную роль в воспалительных процессах, так как тромбин – центральный фермент вторичного звена гемостаза – является важнейшим медиатором воспалительного ответа [4]. Одним из многочисленных механизмов влияния тромбоцитов на плазменное звено гемостаза является активация фактора свертывания крови XII, также тесно связанного с калликреин-кининовой системой (ККС) [84]. Являясь основным активатором прекалликреина, фактор XII начинает процесс высвобождения брадикинина, который, в свою очередь, повышает проницаемость эндотелия и расширяет сосуды, чтобы облегчить их проницаемость для нейтрофилов и моноцитов [85]. Это демонстрирует важную роль фактора XII и ККС в воспалительных процессах. Было показано, что активация тромбоцитов способна приводить к активации фактора XII [86, 87], это позволяет сделать вывод, что активация тромбоцитов способна привести к активации ККС, что, в свою очередь, дает значительный толчок к развитию воспалительных реакций.

Одним из ключевых механизмов участия тромбоцитов в ускорении реакций свертывания крови является предоставление отрицательно заряженных фосфолипидных поверхностей: при сильной активации образуются так называемые прокоагулянтные тромбоциты, содержащие высокий процент фосфатидилсерина на внешней части плазматической мембраны [88, 89]. Помимо опосредованного влияния данной субпопуляции на процессы воспаления, благодаря усилению наработки тромбина, прокоа-

гулянтные тромбоциты активно взаимодействуют с лейкоцитами, и в ряде случаев такое взаимодействие может приводить к тромбовоспалительным осложнениям [88, 90–92].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Участие тромбоцитарного звена гемостаза в регуляции воспалительных процессов сегодня является предметом активных исследований. Нарушение такой регуляции, по всей видимости, является причиной множества патологических состояний, в том числе ассоциированных с процессами тромбовоспаления. В данном обзоре мы постарались сфокусироваться на роли тромбоцитов в различных процессах, связанных с воспалением, однако следует подчеркнуть, что реакции каскада свертывания также играют важную роль в регуляции иммунного ответа. Помимо активного участия тромбина в регуляции множества процессов за счет взаимодействия с PAR-рецепторами на поверхности эндотелиальных клеток, лейкоцитов и тромбоцитов [4] известно, что образование фибрина механически ограничивает процессы выхода лейкоцитов в ткани как в случае повреждения сосудистой стенки, так и при нарушении целостности межэндотелиальных контактов из-за воспалительных процессов [93, 94]. В заключение следует также отметить, что многие пути, обеспечивающие связь двух критически важных процессов в организме – гемостаза и воспаления, а также механизмы их регуляции и нарушений на сегодняшний день требуют дальнейшего экспериментального и теоретического анализа.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда №23-44-00082.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

Литература / References

1. Nieswandt B., Pleines I., Bender M. Platelet adhesion and activation mechanisms in arterial thrombosis and ischaemic stroke. *J Thromb Haemost* 2011; 9: 92–104.
2. Martinod K., Deppermann C. Immunothrombosis and thromboinflammation in host defense and disease. *Platelets* 2021; 32 (3): 314–24.
3. Kral J.B., Schrottmaier W.C., Salzman M., Assinger A. Platelet interaction with innate immune cells. *Transfus Med Hemother* 2016; 43 (2): 78–88.
4. Jackson S.P., Darbousset R., Schoenwaelder S.M. Thromboinflammation: challenges of therapeutically targeting coagulation and other host defense mechanisms. *Blood* 2019; 133 (9): 906–18.
5. Palankar R., Greinacher A. Challenging the concept of immunothrombosis. *Blood* 2019; 133 (6): 508–9.
6. Lindemann S., Krämer B., Seizer P., Gawaz M. Platelets, inflammation and atherosclerosis. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 203–11.

7. Alexandru N., Popov D., Georgescu A. Platelet dysfunction in vascular pathologies and how can it be treated. *Thromb Res* 2012; 129 (2): 116–26.
8. Gawaz M., Langer H., May A.E. Platelets in inflammation and atherogenesis. *J Clin Invest* 2005; 115 (12): 3378–84. DOI: 10.1172/JCI27196
9. Gawaz M., Vogel S. Platelets in tissue repair: control of apoptosis and interactions with regenerative cells. *Blood* 2013; 122 (15): 2550–4. DOI: 10.1182/blood-2013-05-468694
10. Morrell C.N., Aggrey A.A., Chapman L.M., Modjeski K.L. Emerging roles for platelets as immune and inflammatory cells. *Blood* 2014; 123 (18): 2759–67. DOI: 10.1182/blood-2013-11-462432
11. Nurden A.T. Platelets, inflammation and tissue regeneration. *Thromb Haemost* 2011; 105 (suppl 1): S13–33.
12. Vogel S., Bodenstern R., Chen Q., Feil S., Feil R., Rheinlaender J., et al. Platelet-derived HMGB1 is a critical mediator of thrombosis. *J Clin Invest* 2015; 125 (12): 4638–54. DOI: 10.1172/JCI81660
13. Schuhmann M.K., Guthmann J., Stoll G., Nieswandt B., Kraft P., Kleinschnitz C. Blocking of platelet glycoprotein receptor 1b reduces “thrombo-inflammation” in mice with acute ischemic stroke. *J Neuroinflammation* 2017; 14 (1): 18.
14. Petri B., Broermann A., Li H., Khandoga A.G., Zarbock A., Krombach F., et al. von Willebrand factor promotes leukocyte extravasation. *Blood* 2010; 116 (22): 4712–9.
15. Liverani E., Kilpatrick L.E., Tsyganov A.Y., Kunapuli S.P. The role of P2Y12 receptor and activated platelets during inflammation. *Curr Drug Targets* 2014; 15 (7): 720–8.
16. Paruchuri S., Tashimo H., Feng C., Maekawa A., Xing W., Jiang Y., et al. Leukotriene E4-induced pulmonary inflammation is mediated by the P2Y12 receptor. *J Exp Med* 2009; 206: 2543–55.
17. Kanaoka Y., Boyce J.A. Cysteinyl leukotrienes and their receptors: cellular distribution and function in immune and inflammatory responses. *J Immunol* 2004; 173 (3): 1503–10.
18. Liu M.C., Dubé L.M., Lancaster J. Acute and chronic effects of a 5-lipoxygenase inhibitor in asthma: a 6-month randomized multicenter trial. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98 (5): 859–71.
19. Wenzel S.E., Larsen G.L., Johnston K., Voelkel N.F., Westcott J.Y. Elevated levels of leukotriene C4 in bronchoalveolar lavage fluid from atopic asthmatics after endobronchial allergen challenge. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142 (1): 112–9.
20. Hallstrand T.S., Henderson W.R. Jr. An update on the role of leukotrienes in asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010; 10 (1): 60.
21. Kim D.C., Ida Hsu F., Barrett N.A., Friend D.S., Grenningloh R., Ho I-C., et al. Cysteinyl leukotrienes regulate Th2 cell-dependent pulmonary inflammation. *J Immunol* 2006; 176 (7): 4440–8.
22. Swennen E.L., Bast A., Dagnelie P.C. Purinergic receptors involved in the immunomodulatory effects of ATP in human blood. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 348: 1194–9.
23. Thomas M.R., Outteridge S.N., Ajjan R.A., Phoenix F., Sangha G.K., Faulkner R.E., et al. Platelet P2Y12 inhibitors reduce systemic inflammation and its prothrombotic effects in an experimental human model. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2015; 35 (12): 2562–70.
24. Hagiwara S., Iwasaka H., Hasegawa A., Oyama M., Imatomi R., Uchida T., Noguchi T. Adenosine diphosphate receptor antagonist clopidogrel sulfate attenuates LPS-induced systemic inflammation in a rat model. *Shock* 2011; 35 (3): 289–92.
25. Vallance T.M., Zeuner M.-T., Williams H.F., Widera D., Vaiyapuri S. Toll-like receptor 4 signalling and its impact on platelet function, thrombosis, and haemostasis. *Mediators Inflamm* 2017; 2017: 9605894.
26. Andonegui G., Kerfoot S.M., McNagny K., Ebbert K.V.J., Patel K.D., Kubes P. Platelets express functional Toll-like receptor-4. *Blood* 2005; 106 (7): 2417–23.
27. Damien P., Cognasse F., Eyraud M.-A., Arthaud C.-A., Pozzetto B., Garraud O., Hamzeh-Cognasse H. LPS stimulation of purified human platelets is partly dependent on plasma soluble CD14 to secrete their main secreted product, soluble-CD40-Ligand. *BMC Immunol* 2015; 16 (1): 3.
28. Clark S.R., Ma A.C., Tavener S.A., McDonald B., Goodarzi Z., Kelly M.M., et al. Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nat Med* 2007; 13 (4): 463–9.
29. Amirkhosravi A., Mousa S.A., Amaya M., Blaydes S., Desai H., Meyer T., Francis J.L. Inhibition of tumor cell-induced platelet aggregation and lung metastasis by the oral GpIIb/IIIa antagonist XV454. *Thromb Haemost* 2003; 90 (3): 549–54.
30. Koupenova M., Vitseva O., MacKay C.R., Beaulieu L.M., Benjamin E.J., Mick E., et al. Platelet-TLR7 mediates host survival and platelet count during viral infection in the absence of platelet-dependent thrombosis. *Blood* 2014; 124 (5): 791–802.
31. Herter J.M., Rossaint J., Zarbock A. Platelets in inflammation and immunity. *J Thromb Haemost* 2014; 12 (11): 1764–75.
32. Hamilos M., Petousis S., Parthenakis F. Interaction between platelets and endothelium: from pathophysiology to new therapeutic options. *Cardiovasc Diagn Ther* 2018; 8 (5): 568–80.
33. Elzey B.D., Ratliff T.L., Sowa J.M., Crist S.A. Platelet CD40L at the interface of adaptive immunity. *Thromb Res* 2011; 127 (3): 180–3.
34. Schleicher R.I., Reichenbach F., Kraft P., Kumar A., Lescan M., Todt F., et al. Platelets induce apoptosis via membrane-bound FasL. *Blood* 2015; 126 (12): 1483–93.
35. Qiao J.L., Shen Y., Gardiner E.E., Andrews R.K. Proteolysis of platelet receptors in humans and other species. *Biol Chem* 2010; 391 (8): 893–900.
36. Qiao J., Wu X., Luo Q., Wei G., Xu M., Wu Y., et al. NLRP3 regulates platelet integrin α IIb β 3 outside-in signaling, hemostasis and arterial thrombosis. *Haematologica* 2018; 103 (9): 1568–76. DOI: 10.3324/haematol.2018.191700
37. Hottz E.D., Lopes J.F., Freitas C., Valls-de-Souza R., Oliveira M.F., Bozza M.T., et al. Platelets mediate

- increased endothelium permeability in dengue through NLRP3-inflammasome activation. *Blood* 2013; 122 (20): 3405–14.
38. Murthy P., Durco F., Miller-Ocuin J.L., Takedai T., Shankar S., Liang X., et al. The NLRP3 inflammasome and bruton's tyrosine kinase in platelets co-regulate platelet activation, aggregation, and *in vitro* thrombus formation. *Biochem Biophys Res Commun* 2017; 483 (1): 230–6.
 39. Agostini L., Martinon F., Burns K., McDermott M.F., Hawkins P.N., Tschopp J. NALP3 forms an IL-1 β -processing inflammasome with increased activity in Muckle-Wells autoinflammatory disorder. *Immunity* 2004; 20 (3): 319–25. DOI: 10.1016/s1074-7613(04)00046-9
 40. Willingham S.B., Allen I.C., Bergstralh D.T., June Brickey W., Huang M.T.H., Taxman D.J., et al. NLRP3 (NALP3, Cryopyrin) facilitates *in vivo* caspase-1 activation, necrosis, and HMGB1 release via inflammasome-dependent and-independent pathways. *J Immunol* 2009; 183 (3): 2008–15.
 41. Ito A., Hong C., Rong X., Zhu X., Tarling E.J., Hedde P.N., et al. LXRs link metabolism to inflammation through Abca1-dependent regulation of membrane composition and TLR signaling. *Elife* 2015; 4: e08009.
 42. Liu T., Zhang L., Joo D., Sun S.-C. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther* 2017; 2 (1): 1–9.
 43. Pennings G.J., Reddel C.J., Traini M., Lam M., Kockx M., Chen V.M., Kritharides L. Rapid release of interleukin-1 β from human platelets is independent of NLRP3 and caspase. *Thromb Haemost* 2021; 122 (4): 517–28.
 44. Rolfes V., Secchim Ribeiro L., Hawwari I., Böttcher L., Rosero N., Maasewerd S., et al. Platelets fuel the inflammasome activation of innate immune cells. *Cell Rep* 2020; 31 (6): 107615.
 45. Lindemann S., Tolley N.D., Dixon D.A., McIntyre T.M., Prescott S.M., Zimmerman G.A., Weyrich A.S. Activated platelets mediate inflammatory signalling by regulated interleukin 1 β synthesis. *J Cell Biol* 2001; 154 (3): 485–90.
 46. Bergsbaken T., Fink S.L., Cookson B.T. Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7: 99–109.
 47. Antonopoulos C., Russo H.M., El Sanadi C., Martin B.N., Li X., Kaiser W.J., et al. Caspase-8 as an effector and regulator of NLRP3 inflammasome signaling. *J Biol Chem* 2015; 290: 20167–84.
 48. Li J., Kim K., Barazia A., Tseng A., Cho J. Platelet–neutrophil interactions under thromboinflammatory conditions. *Cell Mol Life Sci* 2015; 72: 2627–43.
 49. Lisman T. Platelet–neutrophil interactions as drivers of inflammatory and thrombotic disease. *Cell Tissue Res* 2018; 371 (3): 567–76.
 50. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D.S., et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004; 303 (5663): 1532–5.
 51. Campos J., Ponomaryov T., De Prendergast A., Whitworth K., Smith C.W., Khan A.O., et al. Neutrophil extracellular traps and inflammasomes cooperatively promote venous thrombosis in mice. *Blood Adv* 2021; 5 (9): 2319–24.
 52. Guo L., Rondina M.T. The era of thromboinflammation: platelets are dynamic sensors and effector cells during infectious diseases. *Front Immunol* 2019; 10: 2204.
 53. Rossaint J., Kühne K., Skupski J., Van Aken H., Looney M.R., Hidalgo A., Zarbock A. Directed transport of neutrophil-derived extracellular vesicles enables platelet-mediated innate immune response. *Nat Commun* 2016; 7 (1): 13464.
 54. Dib P.R.B., Quirino-Teixeira A.C., Botelho M.L., Brandi Mendonça Pinheiro M., Rozini S.V., Brandi Andrade F., Damaceno Hottz E. Innate immune receptors in platelets and platelet-leukocyte interactions. *J Leuc Biol* 2020; 108 (4): 1157–82.
 55. Cerletti C., de Gaetano G., Lorenzet R. Platelet–leukocyte interactions: multiple links between inflammation, blood coagulation and vascular risk. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2010; 2 (3): e2010023.
 56. Rossaint J., Zarbock A. Platelets in leucocyte recruitment and function. *Cardiovasc Res* 2015; 107 (3): 386–95.
 57. He P. Leucocyte/endothelium interactions and microvessel permeability: coupled or uncoupled? *Cardiovasc Res* 2010; 87 (2): 281–90.
 58. Hurley S.M., Kahn F., Nordenfelt P., Mörgelin M., Sørensen O.E., Shannon O. Platelet-dependent neutrophil function is dysregulated by M protein from *Streptococcus pyogenes*. *Infect Immunity* 2015; 83 (9): 3515–25.
 59. Silverstein R. Type 2 scavenger receptor CD36 in platelet activation: the role of hyperlipemia and oxidative stress. *Clin Lipidol* 2009; 4 (6): 767–79.
 60. Kimball A.S., Obi A.T., Diaz J.A., Henke P.K. The emerging role of NETs in venous thrombosis and immunothrombosis. *Front Immunol* 2016; 7: 236.
 61. Stakos D.A., Kambas K., Konstantinidis T., Mitroulis I., Apostolidou E., Arelaki S., et al. Expression of functional tissue factor by neutrophil extracellular traps in culprit artery of acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2015; 36 (22): 1405–14.
 62. Kambas K., Mitroulis I., Ritis K. The emerging role of neutrophils in thrombosis – the journey of TF through NETs. *Front Immunol* 2012; 3: 385.
 63. Zhang H., Zhou Y., Qu M., Yu Y., Chen Z., Zhu S., et al. Tissue factor-enriched neutrophil extracellular traps promote immunothrombosis and disease progression in sepsis-induced lung injury. *Front Cell Infect Microbiol* 2021; 11: 677902.
 64. Sarma J.V., Ward P.A. The complement system. *Cell Tissue Res* 2011; 343 (1): 227–35.
 65. Noris M., Remuzzi G. Overview of Complement Activation and Regulation. *Semin Nephrol* 2013; 33 (Issue 6): 479–92.
 66. Matsushita M., Endo Y., Fujita T. Structural and Functional Overview of the Lectin Complement Pathway: Its Molecular Basis and Physiological Implication. *Arch Immunol Ther Exp* 2013; 61: 273–83.
 67. Subramaniam S., Jurk K., Hobohm L., Jäckel S., Saffarzadeh M., Schwierczek K., et al. Distinct contributions of complement factors to platelet activation and fibrin formation in venous thrombus

- development. *Blood* 2017; 129 (16): 2291–302.
68. Mannes M., Pechtl V., Hafner S., Dopler A., Eriksson O., Anand Manivel V., et al. Complement and platelets: prothrombotic cell activation requires membrane attack complex-induced release of danger signals. *Blood Adv* 2023; 7 (20): 6367–80.
 69. Sauter R.J., Sauter M., Reis E.S., Emschermann F.N., Nording H., Ebenhöch S., et al. Functional relevance of the anaphylatoxin receptor C3aR for platelet function and arterial thrombus formation marks an intersection point between innate immunity and thrombosis. *Circulation* 2018; 138 (16): 1720–35.
 70. Arbesu I., Bucsaiova M., Fischer M.B., Mannhalter C. Platelet-borne complement proteins and their role in platelet–bacteria interactions. *J Thromb Haemost* 2016; 14 (11): 2241–52.
 71. Koupenova M., Corkrey H.A., Vitseva O., Manni G., Pang C.J., Clancy L., et al. The role of platelets in mediating a response to human influenza infection. *Nat Commun* 2019; 10 (1): 1780.
 72. Deshmukh H., Speth C., Shepard D.C., Neurauter M., Würzner R., Lass-Flörl C., Rambach G. Aspergillus-derived galactosaminogalactan triggers complement activation on human platelets. *Front Immunol* 2020; 11: 550827.
 73. Ekdahl K.N., Nilsson B. Phosphorylation of complement component C3 and C3 fragments by a human platelet protein kinase. Inhibition of factor I-mediated cleavage of C3b. *J Immunol* 1995; 154 (12): 6502–10.
 74. Ekdahl K.N., Nilsson B. Alterations in C3 activation and binding caused by phosphorylation by a casein kinase released from activated human platelets. *J Immunol* 1999; 162 (12): 7426–33.
 75. Jansen M.P.B., Florquin S., Roelofs J.J.T.H. The role of platelets in acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol* 2018; 14 (7): 457–71.
 76. de Cordoba S.R., Subías Hidalgo M., Pinto S., Tortajada A. Genetics of atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS). *Semin Thromb Hemost* 2014; 40 (4): 422–30.
 77. Hyvärinen S., Meri S., Jokiranta T.S. Disturbed sialic acid recognition on endothelial cells and platelets in complement attack causes atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2016; 127 (22): 2701–10.
 78. Bessler M., Mason P.J., Hillmen P., Miyata T., Yamada N., Takeda J., et al. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) is caused by somatic mutations in the *PIG-A* gene. *EMBO J* 1994; 13 (1): 110–7.
 79. Gralnick H.R., Vail M., McKeown L.P., Merryman P., Wilson O., Chu I., Kimball J., et al. Activated platelets in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 1995; 91 (3): 697–702.
 80. Boyce S. Eren E., Lwaleed B.A., Kazmi R.S. The activation of complement and its role in the pathogenesis of thromboembolism. *Semin Thromb Hemost* 2015; 41 (6): 665–72.
 81. Nording H., Baron L., Langer H.F. Platelets as therapeutic targets to prevent atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2020; 307: 97–108.
 82. Huber-Lang M.S., Ignatius A., Köhl J., Mannes M., Braun C.K. Complement in trauma – Traumatized complement? *Br J Pharmacol* 2021; 178 (14): 2863–79.
 83. Sang Y., Roest M., de Laat B., de Groot P.G., Huskens D. Interplay between platelets and coagulation. *Blood Rev* 2021; 46: 100733.
 84. Schmaier A.H. The contact activation and kallikrein/kinin systems: pathophysiologic and physiologic activities. *J Thromb Haemost* 2016; 14 (1): 28–39.
 85. Kenne E., Rasmuson J., Renné T., Vieira M.L., Müller-Esterl W., Herwald H., Lindbom L. Neutrophils engage the kallikrein-kinin system to open up the endothelial barrier in acute inflammation. *FASEB J* 2019; 33 (2): 2599–609.
 86. Verhoef J.J.F., Barendrecht A.D., Nickel K.F., Dijkxhoorn K., Kenne E., Labberton L., et al. Polyphosphate nanoparticles on the platelet surface trigger contact system activation. *Blood* 2017; 129 (12): 1707–17.
 87. Bäck J., Sanchez J., Elgue G., Nilsson Ekdahl K., Nilsson B. Activated human platelets induce factor XIIa-mediated contact activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 391 (1): 11–7.
 88. Denorme F., Campbell R.A. Procoagulant platelets: novel players in thromboinflammation. *Am J Physiol Cell Physiol* 2022; 323 (4): 951–8.
 89. Podoplelova N.A., Nechipurenko D.Y., Ignatova A.A., Sveshnikova A.N., Panteleev M.A. Procoagulant platelets: mechanisms of generation and action. *Hämostaseologie* 2021; 41 (02): 146–53.
 90. Yuan Y., Alwis I., Wu Mike C.L., Kaplan Z., Ashworth K., Bark D. Jr, et al. Neutrophil macroaggregates promote widespread pulmonary thrombosis after gut ischemia. *Sci Transl Med* 2017; 9 (409): eaam5861.
 91. Denorme F., Kanth Manne B., Portier I., Eustes A.S., Kosaka Y., Kile B.T., et al. Platelet necrosis mediates ischemic stroke outcome in mice. *Blood* 2020; 135 (6): 429–40.
 92. Denorme F., Portier I., Rustad J.L., Cody M.J., de Araujo C.V., Hoki C., et al. Neutrophil extracellular traps regulate ischemic stroke brain injury. *J Clin Invest* 2022; 132 (10): e154225.
 93. Kaplan Z.S., Zarpellon A., Alwis I., Yuan Y., McFadyen J., Ghasemzadeh M., et al. Thrombin-dependent intravascular leukocyte trafficking regulated by fibrin and the platelet receptors GPIb and PAR4. *Nat Commun* 2015; 6 (1): 7835.
 94. Kaiser R., Escaig R., Nicolai L. Hemostasis without clot formation: how platelets guard the vasculature in inflammation, infection, and malignancy. *Blood* 2023.

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 28.12.2023
Принята к печати 26.09.2024



EDN: UUXVKV

Контактная информация:

Головина Елена Михайловна, лаборант-исследователь лаборатории патологии гемостаза ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; врач-гематолог отделения детской онкологии и гематологии с химиотерапией ГБУ РО «Областная детская клиническая больница»
Адрес: 344015, Ростов-на-Дону, ул. 339-й Стрелковой дивизии, 14
E-mail: golovinhelen@yandex.ru

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 28.12.2023
Accepted 26.09.2024

Correspondence:

Elena M. Golovina, a research technician at the Laboratory of Hemostasis Disorders at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation; a hematologist at the Department of Pediatric Oncology and Hematology with Chemotherapy at Regional Children's Clinical Hospital
Address: 339 Rifle Division St. 14, Rostov-on-Don 344015, Russia
E-mail: golovinhelen@yandex.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-162-167

Витамин К-зависимая коагулопатия у новорожденных и детей первых месяцев жизни

Е.М. Головина^{1,2}, К.С. Асланян²

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва
²ГБУ РО «Областная детская клиническая больница», Ростов-на-Дону

Значимый вклад в структуру геморрагических заболеваний у детей в возрасте до 6 месяцев вносит витамин К-зависимая коагулопатия – заболевание, развивающееся в результате дефицита витамина К. Среди ее форм наиболее грозной является поздняя – до половины случаев сопровождаются внутричерепными кровоизлияниями, которые при несвоевременной диагностике нередко приводят к инвалидизирующим осложнениям и даже летальному исходу. Данный обзор содержит данные о распространенности, подходах к лечению и профилактике витамин К-зависимой коагулопатии у новорожденных и детей первых месяцев жизни.

Ключевые слова: поздняя геморрагическая болезнь новорожденных, витамин К, дети, коагулопатия, менадиона натрия бисульфит, кровотечение

Головина Е.М. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 162–7. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-162-167

Vitamin K-dependent coagulopathy in neonates and infants

Е.М. Golovina^{1,2}, К.С. Aslanyan²

¹The Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow
²Regional Children's Clinical Hospital, Rostov-on-Don

Vitamin K-dependent coagulopathy caused by vitamin K deficiency holds an important place among bleeding disorders in newborns and infants. The late type of this disease is considered to be the most dangerous one because up to 50% of children develop intracranial hemorrhage which often leads to disability or even death if diagnosis is delayed. Here, we report on the prevalence, treatment and prevention of vitamin K-dependent coagulopathy in neonates and infants.

Key words: late hemorrhagic disease of the newborn, vitamin K, children, coagulopathy, menadione sodium bisulfite, bleeding

Golovina E.M., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 162–7.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-162-167

Геморрагические состояния у детей первых месяцев жизни являются серьезной проблемой, при отсутствии своевременной адекватной диагностики они приводят к инвалидизации и гибели пациентов. Среди причин нарушений свертываемости крови у детей в возрасте до 6 месяцев важной выглядит витамин К-зависимая коагулопатия, также называемая геморрагической болезнью новорожденного. Ключевым звеном патогенеза данного заболевания является развитие дефицита витамина К.

Витамин К представляет собой жирорастворимый витамин, который является кофактором синтеза и активации II, VII, IX, X факторов свертывания крови, а также протеинов С, S и Z [1]. Образование активных форм витамина К происходит под действием витамин К-эпоксидредуктазы, затем он опосредует процесс гамма-глутамин-карбоксилирования выше указанных факторов, что, в свою очередь, приводит

к образованию их активных форм. Описаны 3 формы витамина К: филлохинон (K₁), менахинон (K₂) и менадион (K₃) [2]. Витамин K₁ наиболее представлен в организме человека (до 90% всех форм), он обладает наибольшей биодоступностью и поступает в организм алиментарно. Витамин K₂ синтезируется кишечной микрофлорой и играет важную роль в поддержании физиологической концентрации витамина К в организме детей первого года жизни по завершении процесса бактериальной колонизации кишечника [2, 3]. Витамин K₃ является синтетической изоформой, он обладает худшим профилем безопасности и при использовании в стандартных дозах в профилактических и лечебных целях может приводить к развитию острого гемолиза, особенно у пациентов с дефицитом глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы [4].

Из-за высокой алиментарной доступности витамина К и способности микробиоты кишечника к его

синтезу дефицит данного витамина крайне редко развивается у взрослых и детей старше 6 месяцев. К развитию дефицита витамина К у новорожденных и детей первых месяцев жизни приводят разнообразные факторы. Так, например, витамин К не синтезируется плодом и проникает через плаценту лишь в небольших количествах, что доказано исследованиями содержания витамина К и его метаболитов в пуповинной крови, поэтому нарушение его плацентарного трансфера может приводить к развитию дефицита [5]. В литературе описаны случаи гибели новорожденных, не получивших профилактического введения витамина К в первые сутки [6]. Грудное молоко также содержит минимальные количества витамина К, недостаточные для обеспечения физиологической потребности [7]. Другой причиной является незрелость кишечной микробиоты – она играет важную роль в синтезе витамина К, особенно у детей до 1 года, практически не получающих его извне [7]. Поскольку витамин К является жирорастворимым, его всасывание напрямую зависит от нормальной функции желудочно-кишечного тракта и гепатобилиарной системы, поэтому при нарушении их работы (в том числе и функциональном) возможно развитие дефицита [5, 6]. Достаточно редкой причиной является снижение активности витамин К-эпокси-дредуктазы, которое, в свою очередь, приводит к уменьшению количества активных форм витамина К в организме [7].

На основании вышеизложенных факторов, способствующих развитию дефицита витамина К, были сформулированы факторы риска витамин К-зависимой коагулопатии [8]:

- исключительно грудное вскармливание;
- отсутствие профилактического введения витамина К сразу после рождения ребенка;
- хроническая гипоксия плода и асфиксия при рождении;
- родоразрешение путем кесарева сечения;
- недоношенность;
- длительное парентеральное питание в условиях неадекватного снабжения витамином К;
- длительная антибиотикотерапия препаратами широкого спектра действия;
- заболевания ребенка, связанные с нарушением синтеза и всасывания витамина К (синдром мальабсорбции, синдром короткой кишки, холестаза и др.);
- прием матерью во время беременности некоторых лекарственных средств (антагонисты витамина К, противосудорожные препараты, большие дозы антибиотиков широкого спектра действия, противотуберкулезные препараты, нестероидные противовоспалительные препараты непосредственно перед родами);

- эклампсия и преэклампсия;
- патология печени и кишечника у матери.

Таким образом, учитывая, что некоторые из перечисленных факторов являются физиологическими и широко распространены в популяции, дефициту витамина К и развитию витамин К-зависимой коагулопатии в той или иной степени подвержены все новорожденные, в связи с чем изучение ее распространенности и подходов к профилактике является важной задачей.

Классификация и эпидемиология в допрофилактическую эпоху

Впервые витамин К-зависимая коагулопатия была описана в 1894 г. Чарльзом Тоунсендом. Он сообщил о 50 детях, заболевании у которых возникало на 2–4-е сутки и протекало иначе, чем классическая гемофилия. Тогда и был введен термин «геморрагическая болезнь новорожденных» [8]. Позднее было установлено, что заболевание может развиваться и у детей, вышедших из периода новорожденности, однако термин уже укоренился. В 1939 г. был открыт витамин К₁, а в период 1946–1952 гг. проведены исследования, подтвердившие, что причиной геморрагической болезни новорожденных является дефицит витамина К [9, 10].

Традиционно в зависимости от сроков появления симптомов выделяют раннюю (возникающую в первые 24 часа жизни), классическую (2–7-е сутки жизни) и позднюю (8-й день – 6-й месяц жизни) формы витамин К-зависимой коагулопатии [11]. Исторически до начала массовой профилактики общая распространенность заболевания широко варьировала в популяционных исследованиях и составляла от 5,8 до 80 случаев на 100 000 новорожденных [12, 13]. При этом поздняя витамин К-зависимая коагулопатия составляла большую часть всех случаев заболевания, насчитывая, по данным литературы, от 4,4 до 72 случаев на 100 000 новорожденных [14].

Поздняя форма впервые была описана в Таиланде в 1966 г. у 93 детей, находящихся на грудном вскармливании [15]. Она делится на идиопатическую (возникающую при отсутствии других причин кроме исключительно грудного вскармливания) и вторичную (при наличии других факторов риска), чаще всего ее клинические проявления приходится на 2–12-ю недели жизни [16]. Причем в одном из популяционных исследований, проведенном в Японии, идиопатическая форма встречалась в 7,5 раз чаще, чем вторичная, а в 87,7% всех зарегистрированных случаев заболевание развивалось у детей, получающих исключительно грудное вскармливание [17]. У детей с поздней формой также встречаются кожно-слизистые, гастроинтестинальные геморрагические проявления, однако в отличие от

других форм доминируют внутримозговые кровоизлияния – они встречаются в 50–82% случаев, нередко не сопровождаются кожно-слизистым геморрагическим синдромом и в 20–50% случаев приводят к летальному исходу [16, 18, 19]. Последствия поздней витамин К-зависимой коагулопатии зачастую приводят к инвалидизации и даже гибели пациентов. Так, по данным исследования, проведенного в Японии, из 427 пациентов с поздней формой витамин К-зависимой коагулопатии 62 (14,5%) пациента погибли и у 171 (40%) были зарегистрированы тяжелые неврологические осложнения [16].

В небольшом количестве публикаций описывается состояние проблемы при отсутствии рутинной профилактики в настоящее время. Так, с 2008 по 2012 г. в Египте у 70 младенцев, не получивших профилактику, развились внутримозговые кровоизлияния по причине дефицита витамина К. Причем у 44 доношенных пациентов была зарегистрирована поздняя форма заболевания [20]. Согласно данным еще одного недавнего исследования, с 2015 по 2020 г. в Ираке было зарегистрировано 47 случаев поздней витамин К-зависимой коагулопатии, у 32% были зарегистрированы внутримозговые кровоизлияния, у 21% развились хронические неврологические осложнения и 23% пациентов погибли [21].

Диагностика и лечение поздней витамин К-зависимой коагулопатии

Диагностика витамин К-зависимой коагулопатии, как правило, основывается на сочетании характерной клинической картины: остро возникшего геморрагического синдрома и изменений в коагулограмме – удлинении активированного частичного тромбoplastинового времени и протромбинового времени при нормальном количестве фибриногена и тромбоцитов. В случаях, когда диагностика заболевания затягивается, может также отмечаться и удлинение тромбинового времени. Косвенным признаком, подтверждающим диагноз витамин К-зависимой коагулопатии у пациента, может служить нормализация этих параметров после введения витамина К [16]. Также стоит отметить, что для поздней формы витамин К-зависимой коагулопатии единственным геморрагическим проявлением может быть спонтанное внутримозговое кровоизлияние, что требует настороженности врачей всех специальностей при остром появлении у ребенка рвоты, срыгиваний, монотонного плача и других признаков церебральной недостаточности.

Главной задачей в лечении поздней витамин К-зависимой коагулопатии является быстрое восполнение дефицита витамина К и купирование геморрагических проявлений. Рекомендации международных сообществ предлагают введение вита-

мина К₁, однако единственной доступной формой в России является менадиона натрия бисульфит – препарат витамина К₃, который вводится в дозе 1–2 мг/кг/сут в течение 2–5 дней. Согласно инструкции к препарату [22], для инъекционной формы допустимо только внутримышечное введение, что представляется небезопасным для пациента с коагулопатией. В то же время для препаратов витамина К₁ зарубежные руководства предполагают возможность подкожного введения [23]. Одновременно с восполнением дефицита витамина К пациентам, имеющим значимые или жизнеугрожающие кровотечения, требуется введение концентрата протромбинового комплекса в дозе 20 МЕ/мл или свежезамороженной плазмы в дозе 10–15 мл/кг [16].

Профилактика поздней витамин К-зависимой коагулопатии в мире и в Российской Федерации

Результатом активного изучения вопроса витамин К-зависимой коагулопатии в прошлом веке стала разработка постоянно обновляемых схем профилактики дефицита витамина К у новорожденных, хотя некоторые аспекты, касающиеся новорожденных из групп риска, на сегодняшний день остаются открытыми для обсуждения [24]. С 1961 по 1993 г. Американская академия педиатрии рекомендовала внутримышечное (0,5–1 мг) или энтеральное (1–2 мг) введение витамина К₁ всем новорожденным [25, 26]. Позднее «золотым стандартом» стало считаться внутримышечное введение препарата, обеспечивающее адекватное всасывание, несмотря на транзиторные особенности организма новорожденного [27]. Многолетние наблюдения показали, что такой режим введения достаточно эффективно профилактирует классическую и позднюю формы витамин К-зависимой коагулопатии, заболеваемость которыми составляет менее 0,2 случая на 100 000 новорожденных [28]. Однако все еще регистрируются единичные случаи поздней витамин К-зависимой коагулопатии у новорожденных, получивших профилактическое введение витамина К₁, что, вероятно, требует большего внимания к пациентам из групп риска [29].

С 2015 г. Всемирная организация здравоохранения рекомендует введение препарата витамина К₁ в дозе 1 мг всем новорожденным в первые часы после рождения [30, 31]. В руководстве Американской академии педиатрии 2020 г. приведены аналогичные рекомендации и, кроме того, авторы отмечают необходимость изучения эффективности, безопасности и биодоступности пероральных форм витамина К в профилактике поздней витамин К-зависимой коагулопатии и строгого контроля за пациентами, не получившими препарат в течение первых часов с момента рождения, а также недоношенными

детьми [27, 32]. В некоторых странах, несмотря на рекомендации Всемирной организации здравоохранения, распространено энтеральное введение препаратов витамина K_1 до 3–4 раз в течение первого месяца жизни в разные эпикризные сроки [33, 34]. Существуют мнения, что при таком режиме введения может возрасти риск развития поздней витамин К-зависимой коагулопатии, поскольку его всасывание может быть недостаточным, а режим, предусматривающий неоднократные введения, требует высокой комплаентности родителей [34].

В России существует две версии пока еще не утвержденных Министерством здравоохранения проектов клинических рекомендаций по вопросу диагностики, лечения и профилактики геморрагической болезни новорожденных под авторством профессиональных сообществ неонатологов [16] и детских онкологов-гематологов [35]. Рекомендации Ассоциации неонатологов указывают на меньшую эффективность препаратов витамина K_3 в сравнении с препаратами витамина K_1 , но предлагают профилактическое введение доступного в нашей стране препарата витамина K_3 всем новорожденным [16], тогда как, согласно рекомендациям Общества детских онкологов-гематологов, профилактическое введение рекомендуется только детям из групп риска [35].

В мире введение рутинной профилактики препаратами витамина K_1 позволило снизить общую заболеваемость витамин К-зависимой коагулопатией до 0–3 случаев на 100 000 новорожденных, тогда как данные об эффективности препаратов витамина K_3 у детей представлены немногочисленными и достаточно давними исследованиями, проведенными

преимущественно в группах здоровых доношенных новорожденных [36, 37]. Некоторые руководства и вовсе не рекомендуют применять препараты витамина K_3 , отмечая их токсичность, особенно у недоношенных детей [38]. Так, описывается эритроцитарная токсичность витамина K_3 , которая может приводить к развитию острого гемолиза, особенно у пациентов с дефицитом глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы [39].

Стоит отметить, что, несмотря на отшлифованные за многие годы режимы профилактики, количество случаев поздней витамин К-зависимой коагулопатии при профилактике витамином K_1 стабильно составляет 0,5–1,9 случая на 100 000 новорожденных, получивших профилактику [40, 41], в сравнении с 4,4–7 случаями на 100 000 новорожденных, не получивших ее [8]. В некоторых исследованиях обсуждаются вопросы введения дополнительных профилактических доз витамина К пациентам, относящимся к группам риска [24]. В России современные данные по заболеваемости поздней витамин К-зависимой коагулопатией в группе детей, получивших профилактику витамином K_3 , в настоящее время отсутствуют. Диагностикой и лечением ранней и классической форм в нашей стране занимаются врачи-неонатологи, тогда как поздняя форма находится на стыке неонатологии и педиатрии, что, вероятно, создает проблемы в диагностике в связи с прочной ассоциацией данного состояния с периодом новорожденности, кроме того, это может способствовать потере таких больных из статистического учета (рисунки).

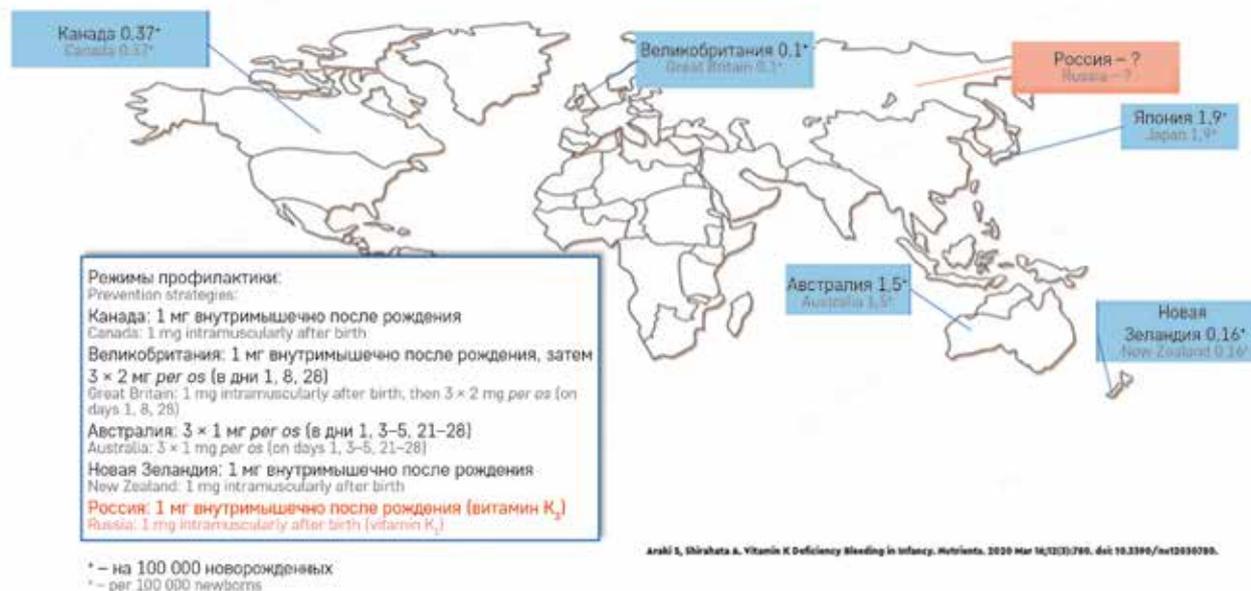
Для пациентов с поздней витамин К-зависимой коагулопатией, согласно данным литературы, характерна манифестация с тяжелых геморрагических

Рисунок

Влияние режимов профилактики на эпидемиологию поздней витамин К-зависимой коагулопатии [7]

Figure

The impact of prevention strategies on the prevalence of late vitamin K-dependent coagulopathy [7]



проявлений, вовлекающих не только желудочно-кишечный тракт и кожу, но и центральную нервную систему, причем внутричерепные кровоизлияния развиваются у 50% пациентов [42], а показатель летальности составляет от 20 до 50% [43]. Также следует отметить, что врачи-педиатры, согласно опросам, зачастую не имеют настороженности относительно развития данного заболевания у пациентов, вышедших из неонатального периода [44].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, несмотря на наличие единого мнения по вопросу профилактики витамин К-зависимой коагулопатии у здоровых новорожденных во всем мире, рекомендации в нашей стране имеют ряд отличий и предполагают введение препарата витамина K_3 , эффективность которого в профилактике витамин К-зависимой коагулопатии, особенно

ее поздних форм, не была подробно описана до настоящего момента. Дальнейшие исследования распространенности поздней витамин К-зависимой коагулопатии, особенно среди детей, получивших профилактическое введение витамина K_3 , а также анализ факторов риска ее развития позволят предложить более эффективные мероприятия по профилактике этой формы заболевания у детей первых месяцев жизни.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Golovina E.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4452-5821>

Aslanyan K.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3635-8579>

Литература / References

- Newman P., Shearer M.J. Vitamin K metabolism. *Subcell Biochem* 1998; 30: 455–88. DOI: 10.1007/978-1-4899-1789-8_19
- Shearer M.J. Vitamin K metabolism and nutrition. *Blood Rev* 1992; 6: 92–104. DOI: 10.1016/0268-960X(92)90011-E
- Clarke P., Mitchell S.J., Shearer M.J. Total and differential phyloquinone (vitamin K_1) intakes of preterm infants from all sources during the neonatal period. *Nutrients* 2015; 7 (10): 8308–20. DOI: 10.3390/nu7105393
- Cornelissen M., von Kries R., Loughnan P., Schubiger G. Prevention of vitamin K deficiency bleeding: Efficacy of different multiple oral dose schedules of vitamin K. *Eur J Pediatr* 1997; 156: 126–30. DOI: 10.1007/s004310050570
- Ardell S., Offringa M., Ovelman C., Soll R. Prophylactic vitamin K for the prevention of vitamin K deficiency bleeding in preterm neonates. *Cochrane Database Syst Rev* 2018; 2: CD008342.
- Zipursky A. Prevention of vitamin K deficiency bleeding in newborns. *Br J Haematol* 1999; 104: 430–7. DOI: 10.1046/j.1365-2141.1999.01104.x
- Araki S., Shirahata A. Vitamin K Deficiency Bleeding in Infancy. *Nutrients* 2020; 12 (3): 780. DOI: 10.3390/nu12030780
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Notes from the field: late vitamin K deficiency bleeding in infants whose parents declined vitamin K prophylaxis – Tennessee, 2013. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2013; 62 (45): 901–2.
- Townsend C.W. The haemorrhagic disease of the newborn. *Arch Paediatr* 1894; 11: 559–65.
- Dam H. Vitamin K, its discovery, biochemistry and application in medicine. *J Mt Sinai Hosp N Y* 1946; 12: 961–70.
- Dam H., Dyggve H., Larsen H., Plum P. The relation of vitamin K deficiency to hemorrhagic disease of the newborn. *Adv Pediatr* 1952; 5: 129–53.
- Jullien S. Vitamin K prophylaxis in newborns. *BMC Pediatr* 2021; 21 (Suppl 1): 350. DOI: 10.1186/s12887-021-02701-4
- Sankar M., Chandrasekaran A., Kumar P., Thukral A., Agarwal R., Paul V.K. Vitamin K prophylaxis for prevention of vitamin K deficiency bleeding: a systematic review. *J Perinatol* 2016; 36 (Suppl 1): S29–35. DOI: 10.1038/jp.2016.30
- Higuera-Cetina C.I., Montaña-Gómez L.M., Picón-Jaimes Y.A., Orozco-Chinome J.E., Lozada-Martínez I.D., Moscote-Salazar L.R. Late-Onset Vitamin K Deficiency Bleeding: A Preventable Pathology. *J Pediatr Hematol Oncol* 2021; 43 (8): e1272–3. DOI: 10.1097/MPH.0000000000002315
- Bhanchet P., Tuchinda S., Hathirat P., Visudhiphan P., Bhamaraphavati N., Bukkavesa S. A bleeding syndrome in infants due to acquired prothrombin complex deficiency: A survey of 93 affected infants. *Clin Pediatr (Phila)* 1977; 16: 992–8. DOI: 10.1177/000992287701601106
- Клинические рекомендации по диагностике и лечению гемолитической болезни новорожденных. М.: Ассоциация неонатологов; 2015. [Электронный ресурс] URL: <https://babymed73.ru/upload/medialibrary/b48/b48d7b487be26fb640ef0291c2e4af2a.pdf> (дата обращения 24.10.2024). [Clinical recommendations for diagnosis and treatment of hemolytic disease of the newborn. M.: Neonatology Association; 2015. [Electronic resource] URL: <https://babymed73.ru/upload/medialibrary/b48/b48d7b487be26fb640ef0291c2e4af2a.pdf> (access date: 24.10.2024). (In Russ.)].
- Hanawa Y., Maki M., Murata B., Matsuyama E., Yamamoto Y., Nagao T., et al. The second nation-wide survey in Japan of vitamin K deficiency in infancy. *Eur J Pediatr* 1988; 147: 472–7. DOI: 10.1007/BF00441969
- Schulte R., Jordan L.C., Morad A., Naftel R.P., Wellons J.C., Sidonio R. Rise in Late Onset Vitamin K Deficiency Bleeding in Young Infants Because of Omission or Refusal of Prophylaxis at Birth. *Pediatr Neurol* 2014; 50: 564–8.
- von Kries R., Hanawa Y. Neonatal vitamin K prophylaxis. Report of Scientific and Standardization Subcommittee on Perinatal Haemostasis. *Thromb Haemost* 1993; 69: 293–5.
- Elalfy M., Eltonbary K., Elalfy O., Gadallah M., Zidan A., Abdel-Hady H. Intracranial haemorrhage

- associated with Vitamin K deficiency in Egyptian infants. *Acta Paediatr* 2021; 110 (11): 2937–43. DOI: 10.1111/apa.16011
21. Al-Zuhairy S.H. Late vitamin K deficiency bleeding in infants: five-year prospective study. *J Pediatr (Rio J)* 2021; 97 (5): 514–9. DOI: 10.1016/j.jpeds.2020.09.003
 22. Инструкция к применению препарата «Викасол». [Электронный ресурс] URL: <https://grls.pharm-portal.ru/grls/f91087d4-4eaf-406b-891a-48d0efcfc475#dosageForms> (дата обращения 24.10.2024). [Vikasol package insert. [Electronic resource] URL: <https://grls.pharm-portal.ru/grls/f91087d4-4eaf-406b-891a-48d0efcfc475#dosageForms> (access date: 24.10.2024). (In Russ.)].
 23. Shearer M.J. Vitamin K deficiency bleeding (VKDB) in early infancy. *Blood Rev* 2009; 23: 49–59. DOI: 10.1016/j.blre.2008.06.001
 24. Lembo C., Buonocore G., Perrone S. The challenge to define the optimal prophylactic regimen for vitamin K deficiency bleeding in infants. *Acta Paediatr* 2021; 110 (4): 1113–8. DOI: 10.1111/apa.15566
 25. American Academy of Pediatrics. Report of the Committee on Nutrition: vitamin K compounds and the water-soluble analogues. *Pediatrics* 1961; 28: 501–6.
 26. American Academy of Pediatrics Vitamin K Ad Hoc Task Force. Controversies concerning vitamin K and the newborn. *Pediatrics* 1993; 91: 1001–3.
 27. American Academy of Pediatrics Committee on Fetus and Newborn. Controversies concerning vitamin K and the newborn. *American Academy of Pediatrics Committee on Fetus and Newborn Pediatrics* 2003; 112: 191–2.
 28. Darlow B.A., Phillips A.A., Dickson N.P. New Zealand surveillance of neonatal vitamin K deficiency bleeding (VKDB): 1998–2008. *J Paediatr Child Health* 2011; 47: 460–4.
 29. Busfield A., Samuel R., McNinch A., Tripp J.H. Vitamin K deficiency bleeding after NICE guidance and withdrawal of Konakion Neonatal: British Paediatric Surveillance Unit study. *Arch Dis Child* 2013; 98: 41–7.
 30. World Health Organization. WHO recommendations on newborn health. Guidelines approved by the WHO guidelines review committee. Geneva; 2017. [Electronic resource] URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/259269/WHO-MCA-17.07-eng.pdf;jsessionid=CF264F9448EAE3_61B5BE63F6B8BD284B?sequence=1 (cited 2019 Jun 10).
 31. World Health Organization. Recommendations for management of common childhood conditions: evidence for technical update of pocket book recommendations. 2012. [Electronic resource] URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44774/9789241502825_eng.pdf?sequence=1 (cited 2019 Jun 25).
 32. American Academy of Pediatrics. AAP publications reaffirmed or retired. *Pediatrics* 2020; 145 (6): 2020–2.
 33. Schubiger G., Berger T.M., Weber R., Bänziger O., Laubscher B.; Swiss Paediatric Surveillance Unit. Prevention of vitamin K deficiency bleeding with oral mixed micellar phyloquinone: results of a 6-year surveillance in Switzerland. *Eur J Pediatr* 2003; 162: 885–8.
 34. von Kries R., Hachmeister A., Göbel U. Oral mixed micellar vitamin K for prevention of late vitamin K deficiency bleeding. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003; 88: F109–12.
 35. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению геморрагической болезни новорожденных. М.: ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Национальное общество детских гематологов, онкологов России; 2014. [Электронный ресурс] URL: <http://nodgo.org/sites/default/files/ФКР%20по%20диагностике%20и%20лечению%20геморрагической%20болезни%20новорожденных.pdf> (дата обращения 24.10.2024). [Federal clinical guidelines for diagnosis and treatment of hemorrhagic disease of the newborn. М.: Dmitry Rogachev NMRCPHOI of Ministry of Healthcare of Russia, National Society of Pediatric Hematologists and Oncologists of Russia; 2014. [Electronic resource] URL: <http://nodgo.org/sites/default/files/ФКР%20по%20диагностике%20и%20лечению%20геморрагической%20болезни%20новорожденных.pdf> (access date: 24.10.2024). (In Russ.)]
 36. Chawla D., Deorari A.K., Saxena R., Paul V.K., Agarwal R., Biswas A., Meena A. Vitamin K₁ versus vitamin K₃ for prevention of subclinical vitamin deficiency: a randomized controlled trial. *Indian Pediatr* 2007; 44 (11): 817–22.
 37. Dyggve H.V., Dam H., Søndergaard E. Comparison of the action of vitamin K₁ with that of synkavit in the newborn. *Acta Paediatr (Stockh)* 1954; 43 (1): 27–31. DOI: 10.1111/j.1651-2227.1954.tb03995.x
 38. Greer F.R. Controversies in neonatal nutrition: macronutrients and micronutrients. In: *Gastroenterology and nutrition: neonatology question and controversies*. 2nd ed. by Neu J. Philadelphia: Elsevier saunders; 2012. Pp. 129–155.
 39. Mihatsch W.A., Braegger C., Bronsky J., Campoy C., Domellöf M., Fewtrell M., et al.; ESPGHAN Committee on Nutrition. Prevention of Vitamin K Deficiency Bleeding in Newborn Infants: A Position Paper by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2016; 63 (1): 123–9. DOI: 10.1097/MPG.0000000000001232
 40. Takahashi D., Shirahata A., Itoh S., Takahashi Y., Nishiguchi T., Matsuda Y. Vitamin K prophylaxis and late vitamin K deficiency bleeding in infants: fifth nationwide survey in Japan. *Pediatr Int* 2011; 53 (6): 897–901. DOI: 10.1111/j.1442-200X.2011.03392.x
 41. Sutor A.H., Dagres N., Niederhoff H. Late form of vitamin K deficiency bleeding in Germany. *Klin Padiatr* 1995; 207 (3): 89–97. DOI: 10.1055/s-2008-1046519
 42. Autret-Leca E., Jonville-Bera A.P. Vitamin K in neonates: how to administer, when and to whom. *Paediatr Drugs* 2001; 3: 1–8.
 43. Yilmaz C., Yuca S.A., Yilmaz N., Bektaş M.S., Caksen H. Intracranial hemorrhage due to vitamin K deficiency in infants: a clinical study. *Int J Neurosci* 2009; 119 (12): 2250–6. DOI: 10.3109/00207450903170437
 44. Заплатников А.Л., Бразжникова О.В., Гавеля Н.В., Никитин В.В., Ашурова Б.А., Королева А.С. и др. К вопросу о «поздней геморрагической болезни новорожденного». *Русский медицинский журнал* 2017; (19): 1331–4. [Zaplatnikov A.L., Brazhnikova O.V., Gavelya N.V., Nikitin V.V., Ashurova B.A., Koroleva A.S., et al. To the question of "late hemorrhagic disease of the newborn". *Russian Medical Journal* 2017; (19): 1331–4. (In Russ.)].

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 15.12.2023
Принята к печати 22.10.2024



EDN: VEYINC

Контактная информация:

Блескин Дмитрий Алексеевич, младший научный сотрудник лаборатории биореологии и биомеханики Центра теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН
Адрес: 109029, Москва, ул. Средняя Калитниковская, 30
E-mail: dmitrybleskin@gmail.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-168-173

Клинические проявления нарушения функций тромбомодулина

Д.А. Блескин^{1, 2}, Е.М. Кольцова^{1, 3}, Д.Ю. Нечипуренко^{1, 3, 4}¹ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН, Москва²ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН, Москва³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва⁴ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва

Тромбомодулин (ТМ) обладает многообразием функций: участвует в регуляции гемостатического ответа, играет роль в разнообразных воспалительных реакциях, а также в пролиферации клеток и ангиогенезе. Изучение клинических проявлений нарушений в работе ТМ помогает лучше понять его роль в различных физиологических процессах и предложить новые терапевтические подходы, связанные с его использованием. В данном обзоре мы постарались подойти к этой проблеме со стороны генетических нарушений: здесь представлено описание некоторых патологических мутаций в гене *TM*, а также их клинические проявления. В обзоре также рассмотрен опыт применения ТМ в диагностике и терапии, обсуждаются перспективы его использования для коррекции различных жизнеугрожающих состояний.

Ключевые слова: тромбомодулин, путь протеина C, тромбин, система гемостаза, генетические заболевания, диагностика, терапия

Блескин Д.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 168–73. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-168-173

Clinical manifestations of thrombomodulin dysfunction

D.A. Bleskin^{1, 2}, E.M. Koltsova^{1, 3}, D.Yu. Nechipurenko^{1, 3, 4}¹Center for Theoretical Problems of Physical and Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow²The N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow³The Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow⁴M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow

Thrombomodulin (TM) performs a wide variety of functions: it is involved in the regulation of hemostatic answer, inflammation, cell proliferation and angiogenesis. Studying clinical manifestations of thrombomodulin dysfunction helps to better understand its role in various physiological processes and develop new treatment strategies involving the use of thrombomodulin. Here, we focused on genetic causes of this problem, describing some pathological mutations in the TM gene as well as their clinical manifestations. We also reported on TM use in disease diagnosis and treatment and discussed the prospects for its application in the management of various life-threatening conditions.

Key words: thrombomodulin, protein C pathway, thrombin, hemostatic system, genetic disorders, diagnosis, therapy

Bleskin D.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 168–73.

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-168-173

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 15.12.2023

Accepted 22.10.2024

Correspondence:

Dmitry A. Bleskin, a junior researcher at the Laboratory of Biorheology and Biomechanics at the Center for Theoretical Problems of Physical and Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences
Address: 30 Srednyaya Kalitnikovskaya St., Moscow 109029, Russia
E-mail: dmitrybleskin@gmail.com

Тромбомодулин (ТМ) является важным эндотелиальным компонентом системы гемостаза и выполняет ряд дополнительных функций в организме человека. Традиционно данный трансмембранный белок рассматривается как важнейший регулятор гемостатического ответа, позволяющий переключать активность тромбина с прокоагулянтной, необходимой на ранних этапах гемостаза, на антикоагулянтную, что играет важную регуляторную роль в остановке наработки тромбина для предотвращения избыточной активации свертывания крови за счет системы протеина C [1, 2] и иммунного ответа. На сегодняшний день известно, что ТМ также является важным регулятором воспалительных реакций [3], и нарушения в его работе могут приводить не только к дисбалансу в системе гемостаза, но и к проблемам, связанным с дисфункцией иммунного ответа.

Данный обзор посвящен анализу современных данных о клинических проявлениях нарушений в работе ТМ, а также имеющейся в литературе информации о способах его применения для диагностики и терапии различных заболеваний.

Особенности структуры и функций тромбомодулина

ТМ кодируется безинтронным геном *THBD* и состоит из 5 структурных регионов [4]. Начиная с N-конца, расположен первый регион, состоящий из лектин-подобного лиганд-связывающего домена с короткой перемычкой. Далее следует регион, состоящий из 6 tandemных гомологичных эпидермальному фактору роста (EGF) доменов. Третий структурный регион – спейсер, богатый серином, треонином и пролином, имеющий высокую степень гликозилирования, отделяющий область с tandemными повто-

рами от трансмембранного и цитоплазматического доменов.

Лектин-подобный домен обуславливает роль ТМ в регуляции воспалительных реакций: он связывает различные провоспалительные агенты, тем самым локально снижая их уровень, например NET [5, 6], HMBG1 [7], LeY [8], а также некоторые факторы из системы комплемента – С3а [9], С3б [10]. Также ТМ осуществляет воздействие непосредственно на клетки, участвующие в воспалении: лектин-подобный домен ТМ на поверхности эндотелия снижает количество экспрессируемых молекул адгезии VCAM и ICAM [11], что, в свою очередь, уменьшает способность лейкоцитов задерживаться в местах неповрежденного эндотелия. С другой стороны, при наличии области повреждения эндотелия клетки иммунитета (в первую очередь нейтрофилы и моноциты), начиная активно взаимодействовать с эндотелием, в конечном итоге инициируют воспалительный ответ.

EGF и O-гликозилированные домены ТМ задействованы в регуляции реакций системы гемостаза. Центральной протеазой системы свертывания крови является тромбин, который превращает растворимый фибриноген в нерастворимый фибрин, вследствие чего в месте повреждения сосуда образуется фибриновая сеть, которая стабилизирует гемостатическую пробку. Также тромбин является сильным активатором клеточного звена гемостаза: взаимодействуя с PAR-рецепторами на поверхности тромбоцитов, тромбин запускает их всевозможные функциональные ответы. В связи с этим основными механизмами остановки реакций плазменного свертывания являются ингибирование выработки тромбина или непосредственно прямое ингибирование самого тромбина. Одной из основных систем, регулирующих остановку свертывания, является система протеина С [1], которая отвечает за деактивацию факторов свертывания Va и VIIIa, в свою очередь, отвечающих за сборку комплексов протромбиназы и внутренней теназы соответственно [12, 13]. ТМ осуществляет основную регуляторную роль в работе системы протеина С. Сначала 4-5-6-EGF-подобные домены ТМ связываются с тромбином, образуя комплекс, после чего тромбин меняет субстратную специфичность с фибриногена на протеин С, и скорость активации протеина С в таком комплексе увеличивается на 3 порядка [14]. Кроме того, такой комплекс обладает возможностью активации тромбин-активируемого ингибитора фибринолиза [15], участвующего в стабилизации фибринового тромба и предотвращении его лизиса.

В дополнение к этому ТМ участвует в процессах ангиогенеза: было показано, что при процессе реканализации сосуда необходим ТМ на поверхности

подосом эндотелиальных клеток для их инвазии через базальную мембрану [16, 17].

Клинические проявления мутаций в гене *THBD*

Как уже было отмечено, ТМ кодируется безинтронным геном *THBD*, располагающимся в локусе 20p11.21. Патологические мутации и генетические сбои при экспрессии гена *TM* приводят к различным нарушениям в работе системы гемостаза и не только (рисунки).

Одним из хорошо описанных клинических проявлений нарушений в гене *TM* является тромбомодулин-ассоциированная коагулопатия: повышенные уровни растворимого ТМ в плазме приводят к ослаблению выработки тромбина и ингибируют фибринолиз, что приводит к кровотечениям [18, 19].

Мутации с.1611C>A (p.Cys537Stop) [18–21] и с.1487delC, (p.Pro496Argfs*10) [22, 23] приводят к отсутствию или нарушению якорной части белка, что вызывает увеличение шединга ТМ с поверхности эндотелия. В тестах *in vitro* этот эффект приводил к снижению параметров теста генерации тромбина и усилению фибринолиза [20–22].

Мутация с.793T>A (p.Cys265Ser) соответствует замене аминокислоты в домене 1EGF, где Cys265 служит для образования дисульфидной связи. Такой ТМ плохо экспрессируется на поверхности клеток и деградирует внутри клетки. Эта мутация была обнаружена у одного пациента, и в его анамнезе были отмечены спонтанные кровоизлияния и ДВС с характерным повышением уровня Д-димера и других продуктов деградации фибрина, а также низкими показателями фибриногена в крови [24].

К нарушениям в системе свертывания также приводят мутации с.659T>G (p.Leu220*Stop) и с.636C>A (p.Ser212*Stop), которые ассоциированы с глубоким тромбозом вен, легочным эмболизмом и артериальным тромбозом [25], однако молекулярный механизм такой ассоциации в настоящее время не описан.

Помимо нарушений в системе гемостаза, некоторые мутации гена *THBD* также приводят к атипичному ГУС, который характеризуется гемолитической анемией, тромбоцитопенией и острой почечной недостаточностью. По большей части типичный синдром проявляется из-за Shiga-подобного токсина *E. coli* [26, 27]. Атипичный синдром, в свою очередь, встречается гораздо реже и является следствием генетических нарушений, так как имеет семейный или спорадический характер. Его связывают с нарушениями в работе компонентов системы комплемента. Как уже было описано выше, ТМ также играет свою роль в ингибировании компонентов комплемента напрямую и опосредованно через тромбин-активируемый ингибитор фибринолиза, который активируется

комплексом ТМ и тромбина и участвует в ингибировании компонентов комплемента. Было показано, что мутации ТМ с.241G>A (Val81Ile), с.158A>G (Asp53Gly), которые располагаются в лейцин-подобном домене, в экспериментах на клетках показывали значительно меньшую ингибирующую активность в отношении C3b, что, по всей видимости, влияет на развитие синдрома [10]. Мутацию с.127G>A (Ala43Thr) помимо ассоциации с атипичным ГУС также связывают с развитием атеросклероза, инфаркта миокарда [28], а также венозного тромбоза. При генетическом профилировании пациентов с ГУС были обнаружены мутации с.707C>G (Ala236Gly) [29, 30], когда замена происходит в цепи, связывающей лейцин- и EGF-подобные домены, и с.102C>A (Asp34Glu) [29], соответствующая замене в лейцин-подобном домене. Мутация с.1208G>A (Arg403Lys) также описана как предрасполагающая к ГУС [31] и была обнаружена у пациента с мембранопротрофиеративным гломеруло-нефритом, вызванным иммунокомплексами [32].

Было также обнаружено, что инсерция inst1689 у пациента, в клинической картине которого был инфаркт миокарда, привела к нарушениям в

экспрессии ТМ на поверхности моноцитов и уменьшению количества растворимого ТМ в крови [33].

Так как существенный вклад в процесс активации протеина С вносит эндотелиальный рецептор протеина С, который способствует ускорению этого процесса комплексом тромбина с ТМ, в последнее время нарушения его работы также относят к функциональным сбоям в системе протеина С. На сегодняшний день описаны мутации в гене *PROCR*, кодирующем эндотелиальный рецептор протеина С: так, например, известно, что с.337C>T (Arg113Cys) ассоциирована с венозным тромбозом [34].

Использование тромбомодулина в качестве инструмента для диагностики и оценки состояния пациентов

ТМ выполняет различные функции в организме человека и животных и поэтому изменение его активности может влиять на большое количество процессов. С точки зрения диагностики измерить функциональную активность мембранного белка на поверхности эндотелиальных клеток крайне сложно, поэтому определяют активность растворимого ТМ,

Рисунок

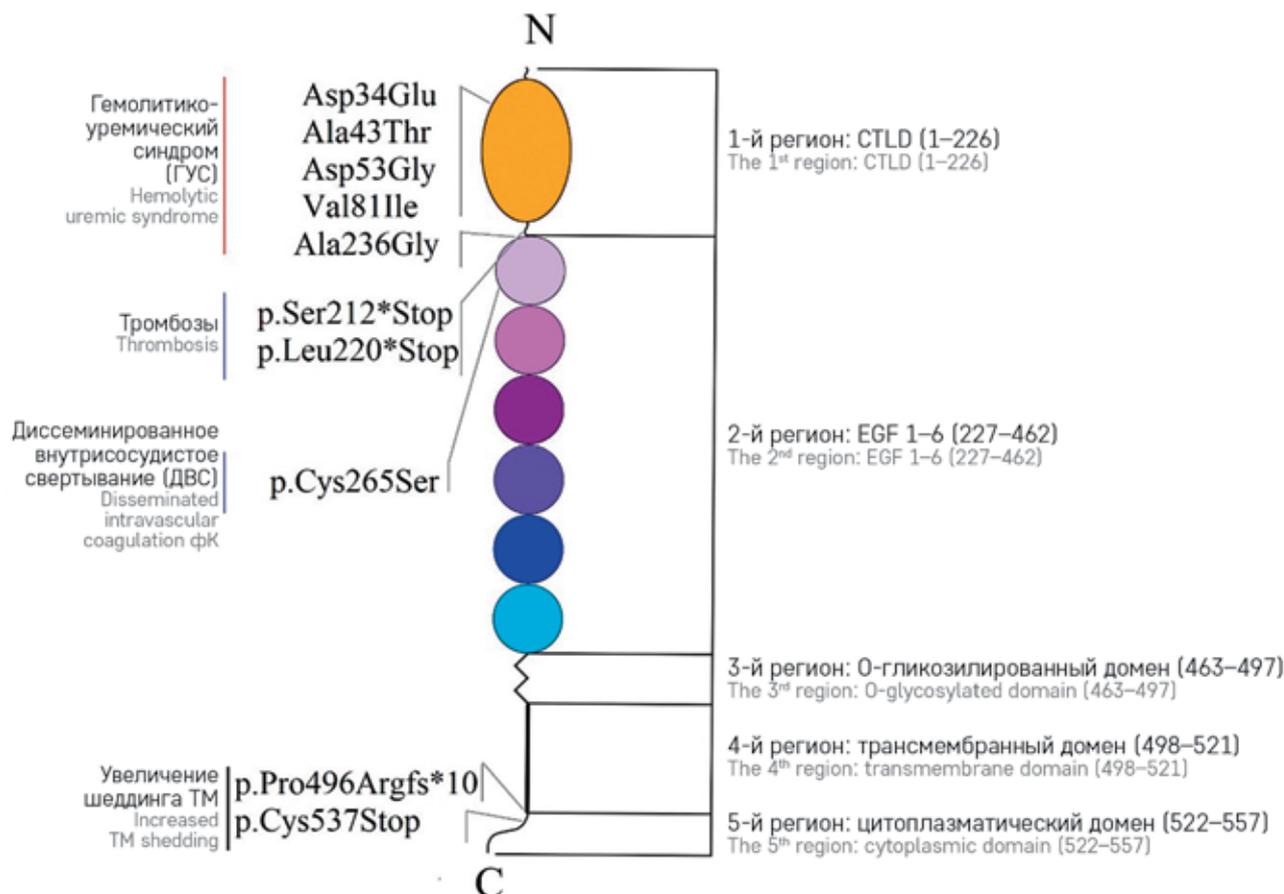
Схема структуры ТМ

ТМ состоит из 5 структурных регионов, отмеченных справа. Слева показаны ключевые мутации и соответствующие клинические проявления

Figure

A schematic representation of thrombomodulin (TM) structure

TM consists of five structural domains indicated on the right. On the left, key mutations and their respective clinical manifestations are shown



образующегося вследствие шеддинга. Шеддинг ТМ происходит под влиянием протеаз, образующихся в результате воспалительных процессов, протекающих на или вблизи эндотелия сосуда. Вследствие этих процессов эндотелий повреждается и уже не может в полной мере выполнять свои протекторные свойства: считается, что ТМ на поверхности здорового эндотелия в первую очередь отвечает за тромборезистентность сосуда. Таким образом, высокий уровень растворимого ТМ является одним из маркеров дисфункции эндотелия [35, 36], так как его повышение связывают с шеддингом, а значит, потерей нормального уровня тромборезистентности. Также уровень растворимого ТМ используют для выявления и определения тяжести таких заболеваний, как атеросклероз [37, 38], ДВС [39, 40], ГУС [41, 42], хроническая венозная недостаточность [43], сепсис [44, 45], абдоминальная аневризма аорты [46, 47], острый респираторный синдром [48], коронарная болезнь сердца [49] и диабет [50].

Самым часто применяемым способом измерения растворимого ТМ на данный момент является иммуноферментный анализ (ELISA) в связи с доступностью и относительно высокой скоростью исполнения таких тестов. Чувствительность определения ТМ в этом случае определяется десятками пг/мл, и из-за специфичности антител анализироваться могут такие сложные биологические жидкости, как плазма, сыворотка, моча и др. Однако ни в каких коммерческих системах не указывается, с каким участком ТМ связываются применяемые антитела. Учитывая, что растворимый ТМ в результате шеддинга может протеолитически расщепляться в разных местах, в исследуемых биологических жидкостях могут присутствовать и части ТМ, которые не могут связаться с антителами, что потенциально увеличивает истинную концентрацию растворимого ТМ. Таким образом, на сегодняшний день достаточно сложно однозначным образом интерпретировать результаты проведенного теста в клинике.

Другим методом анализа содержания ТМ является вестерн-блот, который основан на электрофорезе белков. Данным методом можно выделить все фракции растворенного ТМ по молекулярной массе. Однако этот метод не может дать надежную оценку концентрации растворимого ТМ, что также затрудняет его клиническое использование.

Применение тромбомодулина в клинических исследованиях

Сегодня помимо диагностики ТМ применяют в терапевтической клинической практике как антикоагулянт. В клинике используется рекомбинантный ТМ (рТМ), имеющий только 1–3-й регионы, исключая трансмембранный и цитоплазматический домены.

Как терапевтическое средство рТМ выгодно отличается от других антикоагулянтов – гепарина или рекомбинантного активированного протеина С тем, что работает локально в месте, где есть тромбин [51], и подавляет спонтанное тромбообразование. При этом он не влияет на время свертывания, снижая высоту пика тромбина [52], и, как следствие, не вызывает кровотечений.

Потенциально рТМ является хорошим антикоагулянтом. Однако исследования и метаанализ данных по пациентам, проходящим лечение рТМ при ДВС-синдроме, вызванном сепсисом, не дает однозначных результатов. Выживаемость может увеличиваться при использовании рТМ, однако данный эффект не обладает достаточной статистической достоверностью [53]. Испытание рТМ SCARLET (Sepsis Coagulopathy Asahi Recombinant LE Thrombomodulin), которое проводилось в 27 странах, также не выявило достоверно отличающихся различий в выживаемости пациентов на 28-й день [54], однако существуют некоторые замечания к проводимым исследованиям, и, возможно, такого рода испытания продолжатся [55]. Интересно отметить, что Японское сообщество тромбоза и гемостаза рекомендовало использование рТМ для терапии ДВС [56] еще в 2014 г., однако в международных руководствах по лечению сепсиса и септического шока его не рекомендуют к использованию [54].

Существует еще ряд патологий, при которых рТМ может быть использован в качестве терапевтического агента. В соответствующих исследованиях он выступает и как антикоагулянт, и как противовоспалительный агент для терапии [5, 53], однако большинство таких исследований проведено на *in vivo* моделях мышей или крыс: артрит [57], острый респираторный дистресс-синдром [58], атеросклероз [59, 60]. Отдельного упоминания заслуживает работа ученых из Японии, в которой описано применение рТМ для терапии 3 детей с ГУС на протяжении 7 дней. В результате такого лечения тромбоцитопения, гемолиз и почечная недостаточность были снижены у всех 3 пациентов, а также наблюдалось снижение активности системы комплемента у 1 ребенка [61]. Также на животных моделях было продемонстрировано, что введение рТМ мышам с ГУС увеличивает их выживаемость [62], а также выполняет протекторную роль у мышинных моделей с пиелонефритом [63].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ТМ обладает множеством функций, связанных с регуляцией как гемостатического ответа, так и реакций воспаления, и на сегодняшний день представляется достаточно перспективным диагности-

ческим маркером и возможным терапевтическим агентом. Однако в настоящее время продолжается активный поиск конкретных направлений его клинического использования как для диагностики, так и в качестве потенциального метода коррекции соответствующих нарушений.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда №23-44-00082.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Koltsova E.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0167-6726>

Литература / References

- Amiral J., Seghatchian J. Revisiting the activated protein C-protein S-thrombomodulin ternary pathway: Impact of new understanding on its laboratory investigation. *Transfus Apher Sci* 2019; 58 (4): 538–44.
- Marar T.T., Matzko C.N., Wu J., Esmon C.T., Sinno T., Brass L.F., et al. Thrombin spatial distribution determines protein C activation during hemostasis and thrombosis. *Blood* 2022; 139 (12): 1892–902.
- Conway E.M. Thrombomodulin and its role in inflammation. *Semin Immunopathol* 2012; 34 (1): 107–25.
- Suzuki K. Gene structure of human thrombomodulin, a thrombin receptor on endothelium acting as a cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. *Nihon Ketsueki Gakkai Zasshi* 1988; 51 (8): 1655–64.
- Watanabe-Kusunoki K., Nakazawa D., Ishizu A., Atsumi T. Thrombomodulin as a Physiological Modulator of Intravascular Injury. *Front Immunol* 2020; 11: 1–12.
- Martinod K., Wagner D.D. Thrombosis: Tangled up in NETs. *Blood* 2014; 123 (18): 2768–76.
- Abeyama K., Stern D.M., Ito Y., Kawahara K.I., Yoshimoto Y., Tanaka M., et al. The N-terminal domain of thrombomodulin sequesters high-mobility group-B1 protein, a novel anti-inflammatory mechanism. *J Clin Invest* 2005; 115 (5): 1267–74.
- Shi C.S., Shi G.Y., Hsiao S.M., Kao Y.C., Kuo K.L., Chih-Yuan M., et al. Lectin-like domain of thrombomodulin binds to its specific ligand Lewis y antigen and neutralizes lipopolysaccharide-induced inflammatory response. *Blood* 2008; 112 (9): 3661–70.
- Wang H., Vinnikov I., Shahzad K., Bock F., Ranjan S., Wolter J., et al. The lectin-like domain of thrombomodulin ameliorates diabetic glomerulopathy via complement inhibition. *Thromb Haemost* 2012; 108(6): 1141–53.
- Delvaeye M., Noris M., De Vriese A., Esmon C.T., Esmon N.L., Ferrell G., et al. Thrombomodulin Mutations in Atypical Hemolytic-Uremic Syndrome. *N Engl J Med* 2009; 361 (4): 345–57.
- Geudens N., Van De Wouwer M., Vanaudenaerde B.M., Vos R., Van De Wouwer C., Verleden G.M., et al. The lectin-like domain of thrombomodulin protects against ischaemia-reperfusion lung injury. *Eur Respir J* 2008; 32 (4): 862–70.
- Hemker H.C., Kessels H. Feedback mechanisms in coagulation. *Pathophysiol. Haemost Thromb* 1991; 21(4): 189–96.
- Пантелеев М.А., Котова Я.Н., Токарев А.А., Атауллаханов Ф.И. Механизмы регуляции свертывания крови. *Терапевтический архив* 2008; 80 (7): 88–91. [Panteleev M.A., Kotova I.N., Tokarev A.A., Ataulakhonov F.I. Blood coagulation: mechanisms of regulation. *Therapeutic Archive* 2008; 80 (7): 88–91. (In Russ.)].
- Pozzi N., Barranco-Medina S., Chen Z., Di Cera E. Exposure of R169 controls protein C activation and autoactivation. *Blood* 2012; 120 (3): 664–70.
- Kokame K., Zheng X., Sadler J.E. Activation of thrombin-activable fibrinolysis inhibitor requires epidermal growth factor-like domain 3 of thrombomodulin and is inhibited competitively by protein C. *J Biol Chem* 1998; 273 (20): 12135–9.
- Kuo C.H., Huang Y.H., Chen P.K., Lee G.H., Tang M.J., Conway E.M., et al. VEGF-Induced Endothelial Podosomes via ROCK2-Dependent Thrombomodulin Expression Initiate Sprouting Angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2021; 41 (5): 1657–71.
- Alonso F., Dong Y., Génot E. Thrombomodulin, an Unexpected New Player in Endothelial Cell Invasion During Angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2021; 41 (5): 1672–4.
- Langdown J., Luddington R.J., Huntington J.A., Baglin T.P. A hereditary bleeding disorder resulting from a premature stop codon in thrombomodulin (p.Cys537Stop). *Blood* 2014; 124 (12): 1951–6.
- Rehill A.M., Preston R.J.S. A new thrombomodulin-related coagulopathy. *J Thromb Haemost* 2020; 18 (9): 2123–5.
- Dargaud Y., Scoazec J.Y., Wielders S.J.H., Trzeciak C., Hackeng T.M., Négrier C., et al. Characterization of an autosomal dominant bleeding disorder caused by a thrombomodulin mutation. *Blood* 2015; 125 (9): 1497–501.
- Burley K., Whyte C.S., Westbury S.K., Walker M., Stirrups K.E., Turro E., et al. Altered fibrinolysis in autosomal dominant thrombomodulin-associated coagulopathy. *Blood* 2016; 128 (14): 1879–83.
- Morrow G.B., Beavis J., Harper S., Bignell P., Laffan M.A., Curry N. Characterisation of a novel thrombomodulin c.1487delC,p.(Pro496Argfs*10) variant and evaluation of therapeutic strategies to manage the rare bleeding phenotype. *Thromb Res* 2021; 197: 100–8.
- Turro E., Astle W.J., Megy K., Gräf S., Greene D., Shamardina O., et al. Whole-genome sequencing of patients with rare diseases in a national health system. *Nature* 2020; 583 (7814): 96–102.
- Osada M., Maruyama K., Kokame K., Denda R., Yamazaki K., Kunieda H., et al. A novel homozygous variant of the thrombomodulin gene causes a hereditary bleeding disorder. *Blood Adv* 2021; 5 (19): 3830–8.
- Tang L., Wang H.F., Lu X., Jian X.R., Jin B., Zheng H., et al. Common genetic risk factors for venous thrombosis in the chinese population. *Am J Hum Genet* 2013; 92 (2): 177–87.
- Razzaq S. Hemolytic uremic syndrome: An emerging health risk. *Am Fam Physician* 2006; 74 (6): 991–6.
- Noris M., Remuzzi G. Hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16 (4): 1035–50.
- Doggen C.J.M., Kunz G., Rosendaal F.R., Lane D.A., Vos H.L., Stubbs P.J., et al. A mutation in the thrombomodulin gene, 127G to a coding for Ala25Thr, and the risk of myocardial infarction in men. *Thromb Haemost* 1998; 80 (5): 743–8.
- Maga T.K., Nishimura C.J., Weaver A.E., Frees K.L., Smith R.J.H. Mutations in alternative pathway complement proteins in American patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Hum Mutat* 2010; 31 (6): 1445–60.
- Le Clech A., Simon-Tillaux N., Provôt F., Delmas Y., Vieira-Martins P., Limou S., et al. Atypical and secondary hemolytic uremic syndromes have a distinct presentation and no common genetic risk factors. *Kidney Int* 2019; 95 (6): 1443–52.

31. Matsumoto T., Fan X., Ishikawa E., Ito M., Amano K., Toyoda H., et al. Analysis of patients with atypical hemolytic uremic syndrome treated at the Mie University Hospital: Concentration of C3 p.I1157T mutation. *Int J Hematol* 2014; 100 (5): 437–42.
32. Zhao W., Ding Y., Lu J., Zhang T., Chen D., Zhang H., et al. Genetic analysis of the complement pathway in C3 glomerulopathy. *Nephrol Dial Transplant* 2018; 33 (11): 1919–27.
33. Kunz G., Ireland H.A., Stubbs P.J., Kahan M., Coulton G.C., Lane D.A. Identification and characterization of a thrombomodulin gene mutation coding for an elongated protein with reduced expression in a kindred with myocardial infarction. *Blood* 2000; 95 (2): 569–76.
34. Wu C., Dwivedi D.J., Pepler L., Lysov Z., Wayne J., Julian J., et al. Targeted gene sequencing identifies variants in the protein c and endothelial protein c receptor genes in patients with unprovoked venous thromboembolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013; 33 (11): 2674–81.
35. Mahmood I., Hamdan F., Al-Tameemi W. Role of endothelial dysfunction in relation to prothrombogenesis in polycythemia vera. *Iraqi J Hematol* 2018; 7 (1): 8.
36. Page A.V., Liles W.C. Biomarkers of endothelial activation/dysfunction in infectious diseases. *Virulence* 2013; 4 (6): 507–16.
37. Salomaa V., Matei C., Aleksic N., Sansores-Garcia L., Folsom A.R., Juneja H., et al. Soluble thrombomodulin as a predictor of incident coronary heart disease and symptomless carotid artery atherosclerosis in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study: A case-cohort study. *Lancet* 1999; 353 (9166): 1729–34.
38. Kampoli A.M., Tousoulis D., Antoniadis C., Siasos G., Stefanadis C. Biomarkers of premature atherosclerosis. *Trends Mol Med* 2009; 15 (7): 323–32.
39. Wada H., Mori Y., Shimura M., Hiyoyama K., Ioka M., Nakasaki T., et al. Poor outcome in disseminated intravascular coagulation or thrombotic thrombocytopenic purpura patients with severe vascular endothelial cell injuries. *Am J Hematol* 1998; 58 (3): 189–94.
40. Lin S.M., Wang Y.M., Lin H.C., Lee K.Y., Huang C. Da, Liu C.Y., et al. Serum thrombomodulin level relates to the clinical course of disseminated intravascular coagulation, multiorgan dysfunction syndrome, and mortality in patients with sepsis. *Crit Care Med* 2008; 36 (3): 683–9.
41. Mori Y., Wada H., Okugawa Y., Tamaki S., Nakasaki T., Watanabe R., et al. Increased Plasma Thrombomodulin as a Vascular Endothelial Cell Marker in Patients With Thrombotic Thrombocytopenic Purpura and Hemolytic Uremic Syndrome. *Clin Appl Thromb* 2001; 7 (1): 5–9.
42. Shimizu M., Kuroda M., Inoue N., Konishi M., Igarashi N., Taneichi H., et al. Extensive serum biomarker analysis in patients with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111-induced hemolytic-uremic syndrome. *Cytokine* 2014; 66 (1): 1–6.
43. Budzyń M., Iskra M., Turkiewicz W., Krasiński Z., Gryszczyńska B., Kasprzak M.P. Plasma concentration of selected biochemical markers of endothelial dysfunction in women with various severity of chronic venous insufficiency (CVI) – A pilot study. *PLoS One* 2018; 13 (1): 1–17.
44. Mihajlovic D.M., Lendak D.F., Draskovic B.G., Mikic A.S.N., Mitic G.P., Cebovic T.N., et al. Thrombomodulin is a Strong Predictor of Multiorgan Dysfunction Syndrome in Patients With Sepsis. *Clin Appl Thromb* 2015; 21 (5): 469–74.
45. Faust S.N., Levin M., Harrison O.B., Goldin R.D., Lockhart M.S., Kondaveeti S., et al. Dysfunction of Endothelial Protein C Activation in Severe Meningococcal Sepsis. *N Engl J Med* 2001; 345 (6): 408–16.
46. Budzyń M., Gryszczyńska B., Majewski W., Krasiński Z., Kasprzak M.P., Formanowicz D., et al. The association of serum thrombomodulin with endothelial injuring factors in abdominal aortic aneurysm. *Biomed Res Int* 2017; 2791082.
47. Folsom A.R., Yao L., Alonso A., Lutsey P.L., Missov E., Lederle F.A., et al. Circulating Biomarkers and Abdominal Aortic Aneurysm Incidence. *Circulation* 2015; 132 (7): 578–85.
48. Che X.Y., Hao W., Wang Y., Di B., Yin K., Xu Y.C., et al. Nucleocapsid protein as early diagnostic marker for SARS. *Emerg Infect Dis* 2004; 10 (11): 1947–9.
49. Subirana I., Fitó M., Diaz O., Vila J., Francés A., Delpon E., et al. Prediction of coronary disease incidence by biomarkers of inflammation, oxidation, and metabolism. *Sci Rep* 2018; 8 (1): 1–7.
50. Lyons T.J., Basu A. Biomarkers in diabetes: Hemoglobin A1c, vascular and tissue markers. *Transl Res* 2012; 159 (4): 303–12.
51. Arishima T., Ito T., Yasuda T., Yasuhiro N., Furubeppu H., Kamikokuryo C., et al. Circulating activated protein C levels are not increased in septic patients treated with recombinant human soluble thrombomodulin. *Thromb J* 2018; 16 (1): 1–7.
52. Mohri M., Sugimoto E., Sata M., Asano T. The inhibitory effect of recombinant human soluble thrombomodulin on initiation and extension of coagulation. A comparison with other anticoagulants. *Thromb Haemost* 1999; 82 (6): 1687–93.
53. Ito T., Thachil J., Asakura H., Levy J.H., Iba T. Thrombomodulin in disseminated intravascular coagulation and other critical conditions – A multi-faceted anticoagulant protein with therapeutic potential. *Crit Care* 2019; 23 (1): 1–11.
54. Evans L., Rhodes A., Alhazzani W., Antonelli M., Coopersmith C.M., French C., et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med* 2021; 47 (11): 1181–247.
55. Guo J.Y., Lin H.Y. Why anticoagulant studies on sepsis fail frequently – start with SCARLET. *Chin J Traumatol* 2023; 26 (5): 297–302.
56. Wada H., Okamoto K., Iba T., Kushimoto S., Kawasugi K., Gando S., et al. Addition of recommendations for the use of recombinant human thrombomodulin to the “Expert consensus for the treatment of disseminated intravascular coagulation in Japan”. *Thromb Res* 2014; 134 (4): 924–5.
57. Van De Wouwer M., Plaisance S., De Vriese A., Waelkens E., Colleen D., Persson J., et al. The lectin-like domain of thrombomodulin interferes with complement activation and protects against arthritis. *J Thromb Haemost* 2006; 4 (8): 1813–24.
58. Kudo D., Toyama M., Aoyagi T., Akahori Y., Yamamoto H., Ishii K., et al. Involvement of high mobility group box 1 and the therapeutic effect of recombinant thrombomodulin in a mouse model of severe acute respiratory distress syndrome. *Clin Exp Immunol* 2013; 173 (2): 276–87.
59. Wei H.J., Li Y.H., Shi G.Y., Liu S.L., Chang P.C., Kuo C.H., et al. Thrombomodulin domains attenuate atherosclerosis by inhibiting thrombin-induced endothelial cell activation. *Cardiovasc Res* 2011; 92 (2): 317–27.
60. Chen P.S., Wang K.C., Chao T.H., Chung H.C., Tseng S.Y., Luo C.Y., et al. Recombinant Thrombomodulin Exerts Anti-autophagic Action in Endothelial Cells and Provides Anti-atherosclerosis Effect in Apolipoprotein E Deficient Mice. *Sci Rep* 2017; 7 (1): 1–9.
61. Honda T., Ogata S., Mineo E., Nagamori Y., Nakamura S., Bando Y., et al. A novel strategy for hemolytic uremic syndrome: Successful treatment with thrombomodulin α . *Pediatrics* 2013; 131 (3): e928–33.
62. Suyama K., Kawasaki Y., Miyazaki K., Kanno S., Ono A., Ohara S., et al. The efficacy of recombinant human soluble thrombomodulin for the treatment of shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome model mice. *Nephrol Dial Transplant* 2015; 30 (6): 969–77.
63. Lattenist L., Teske G., Claessen N., Florquin S., Conway E.M., Roelofs J.J.T.H. The lectin like domain of thrombomodulin is involved in the defence against pyelonephritis. *Thromb Res* 2015; 136 (6): 1325–31.

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 23.01.2024
Принята к печати 22.10.2024



EDN: VZHGBT

Контактная информация:

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

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-174-181

Влияние тромботических событий при челюстно-лицевой патологии детского возраста на результаты хирургического лечения

Н.П. Леонов¹, Д.Е. Павлова², П.Е. Трахтман¹, Е.А. Спиридонова³¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва²ГБУЗ г. Москвы «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва³ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России, Москва

Локальные и генерализованные тромботические события могут влиять на результаты лечения и качество жизни пациентов. Целью нашего систематического обзора литературы было исследование влияния тромботических событий при челюстно-лицевой патологии детского возраста на результаты хирургического лечения. Поиск публикаций проведен в декабре 2023 г. в информационной системе PubMed. Два автора независимо рассмотрели исследования и извлекли данные для анализа. В исследование вошли 8 публикаций из 654 найденных. Педиатрическая когорта в отобранных исследованиях была смешана со взрослыми пациентами. Получено недостаточно информации для выполнения метаанализа и четкого ответа на вопрос исследования. Представляется вероятным, что анатомо-патологические особенности челюстно-лицевой патологии, фармакологические эффекты терапии и методы хирургической коррекции могут влиять на развитие и прогрессирование локальной внутрисосудистой коагулопатии. Рекомендации по выбору стандартных или интегральных тестов гемостаза для диагностики и мониторинга коагулопатии при данной патологии отсутствуют. Применение низкомолекулярных гепаринов может уменьшить клинические проявления локальной внутрисосудистой коагулопатии.

Ключевые слова: тромбоз, челюстно-лицевая патология, дети, коагулопатия, челюстно-лицевая хирургия, сосудистые мальформации

Леонов Н.П. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 174–81.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-174-181

The influence of thrombotic events in pediatric maxillofacial pathology on the results of surgical treatment

N.P. Leonov¹, D.E. Pavlova², P.E. Trakhtman¹, E.A. Spiridonova³¹The Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow²The Morozov Children's Clinical Hospital of the Department of Health of Moscow, Moscow³Russian University of Medicine of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Local and generalized thrombotic events can affect patient outcomes and quality of life. The purpose of our scoping review was to investigate the influence of thrombotic events in pediatric maxillofacial pathology on the results of surgical treatment. The search for publications was carried out in December 2023 in the PubMed information system. Two authors independently reviewed the studies and extracted data for analysis. The study included 8 publications out of 654 found. The pediatric cohort in the selected studies was mixed with adult patients. Insufficient information was obtained to carry out a meta-analysis and definitively answer the research question. It seems likely that the anatomical and pathophysiological features of maxillofacial pathology, pharmacological effects of therapy and methods of surgical correction may influence the development and progression of local intravascular coagulopathy. There are no recommendations on the choice of standard or integral hemostasis tests for the diagnosis and monitoring of coagulopathy in this pathology. The use of low-molecular-weight heparins can reduce the clinical manifestations of local intravascular coagulopathy.

Key words: thrombosis, maxillofacial pathology, children, coagulopathy, maxillofacial surgery, vascular malformations

Leonov N.P., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 174–81.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-174-181

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 23.01.2024
Accepted 22.10.2024

Correspondence:

Nikolay P. Leonov,
Cand. Med. Sci., an anesthesiologist – intensivist at the Department of Anesthesiology and Critical Care with Surgical Unit 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., Moscow 117997, Russia
E-mail: nikoleonov@ya.ru

Спектр хирургической патологии челюстно-лицевой области включает воспалительные заболевания, травматические повреждения, сосудистые аномалии, новообразования, пороки развития, кисты и врожденные дефекты. Аномальный кровоток и кровенаполнение в анатомически измененных сосудах или сосудах с поврежденным в результате процессов воспаления эндотелиальным слоем неизбежно увеличивают шанс реализации тромботических осложнений по мере развития

локальной внутрисосудистой коагулопатии, которая может манифестировать и прогрессировать на протяжении всех этапов существования и терапии основного заболевания [1]. Повышенная выработка тромбина, активация тромбоцитов, а также молекул-эффекторов клеточной сигнализации имеют решающее значение для развития тромбоза. При этом общей патогенетической детерминантой венозного и артериального тромбоза, по-видимому, является воспаление, хотя четкая причинно-следственная

связь между маркерами воспаления и тромбозом пока не установлена [2]. Локальные и генерализованные гемодинамические катастрофы также могут привести к прогрессированию локальной внутрисосудистой коагулопатии и ее трансформации в генерализованное диссеминированное внутрисосудистое свертывание с манифестацией тромбгеморрагических событий, которые могут повлиять на результаты лечения и качество жизни пациентов. Цель-ориентированная профилактика нарушений регионарной гемодинамики и тромботических осложнений у детей с хирургической патологией челюстно-лицевой области невозможна без своевременной и качественной диагностики и понимания механизмов реализации этих нарушений. В клинической практике применяются как традиционные, так и интегральные тесты гемостаза. Для управления рисками возникновения осложнений, своевременной их диагностики необходимо понимание частоты их возникновения, доступности методов ранней диагностики, эффективности и безопасности схем терапии патологии гемостаза [3].

Целью данного систематического обзора литературы является поиск данных о влиянии тромботических событий при патологии челюстно-лицевой области у детей на исходы хирургического лечения. Не менее актуальным вопросом для изучения являются данные о выборе методов диагностики нарушений гемостаза и проведении антикоагулянтной терапии при выявлении подобных осложнений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Протокол систематического обзорного исследования научно-медицинских публикаций был составлен в соответствии с рекомендациями PRISMA-ScR и утвержден исследовательской группой 01.09.2023 [4]. Поиск медицинской литературы проведен в декабре 2023 г. в информационной системе PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) с использованием ключевых слов и поисковой стратегии. Также выполнен ручной поиск литературных источников отобранных публикаций для выявления дополнительных публикаций. Окончательные результаты поиска были экспортированы в систему Rayyan (<http://rayyan.qcri.org>). Дубликаты были удалены. В обзор включены научно-медицинские публикации, содержащие информацию о выявлении тромботических осложнений при хирургической патологии челюстно-лицевой области и/или сосудистых мальформациях у педиатрической когорты, а также методах лечения этих осложнений. Исключены публикации, описывающие интракраниальные сосудистые аномалии (нейрохирургия), сосудистые аномалии сердца (кардиохирургия) и других локализаций (конечности, таз, грудная клетка,

живот), наследственные заболевания, сопровождающиеся сосудистыми мальформациями (синдромы Мэя–Тернера и Клиппеля–Треноне, болезнь Бокенхеймера, внутрисосудистая папиллярная эндотелиальная гиперплазия, наследственная геморрагическая телеангиэктазия и проч.), отдельные клинические случаи, а также публикации, которые не соответствуют основной цели данного обзора, были проведены на животных или являлись только протоколом исследования либо не несли аналитических данных и/или являлись отзывами на исследование. Обзор имел ограничения по дате публикаций – рассмотрены публикации с 2000 до 2023 г. Рассматривались статьи на английском и русском языках. В обзор включались исследования, в которых участвовали дети от момента рождения до 18 лет. Публикации со смешанной возрастной когортой, из которых невозможно было изъять информацию о детях младше 18 лет либо извлекаемая выборка была меньше 10% от когорты, исключались. Также исключались публикации, в которых выборка содержала менее 10% педиатрических пациентов с локализацией патологии в области головы и шеи.

Создан список основных ключевых слов и терминов, определена концепция поиска.

Стратегия поиска и ключевые слова:

1) хирургия челюстно-лицевой области (maxillofacial surgery) и (and) тромбоз (thrombosis) с фильтрами, указанными в пункте 3;

2) сосудистые мальформации (vascular malformation) и (and) тромбоз (thrombosis) с фильтрами, указанными в пункте 3;

3) фильтры: английский и русский языки (English, Russian), дети до 18 лет (child: birth-18 years), люди (humans).

Два автора обзора независимо оценивали публикации по критериям включения, сначала изучив название и аннотацию. Если из аннотации было неясно, соответствует ли статья критериям включения, она была включена в дальнейший этап скрининга. Если полный текст публикации не подходил под критерии включения либо невозможно было получить полнотекстовый вариант публикации, мы исключали ее. Форма отчета и базы данных была совместно разработана исследовательской группой. В итоговой таблице регистрировали следующие параметры: автор, год и DOI публикации, размер выборки с долей педиатрической когорты, характеристики пациентов (возраст, номенклатура заболевания), условия и вид вмешательства, основные результаты исследования, используемые методы и устройства диагностики гемостатических нарушений, данные о наличии тромботических осложнений, данные о методах терапии и профилактики тромбозов, а также эффективности этих методов. По завершении поиска

и анализа данных был сформирован отчет, который рассмотрен всеми участниками проекта для разрешения разногласий по отбору и извлечению данных на основе консенсуса. После устранения разногласий отчет был утвержден и сформированы итоговые выводы.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Процесс отбора публикаций проиллюстрирован на *рисунке*.

На этапе скрининга из 36 публикаций, отобранных для анализа полнотекстового варианта на соответствие критериям обзора, исключено 28. Из них в 4 работах локализация заболевания не отвечала критериям отбора – это были сосудистые заболевания конечностей или интракраниальные сосудистые аномалии. В 19 исключенных работах педиатрическая когорта была крайне мала (менее 10%) либо невозможно было извлечь информацию о ней. В данных работах частота тромботических событий при патологии челюстно-лицевой области колеблется от 0,34 до 7,7% [5–9]. А в публикации

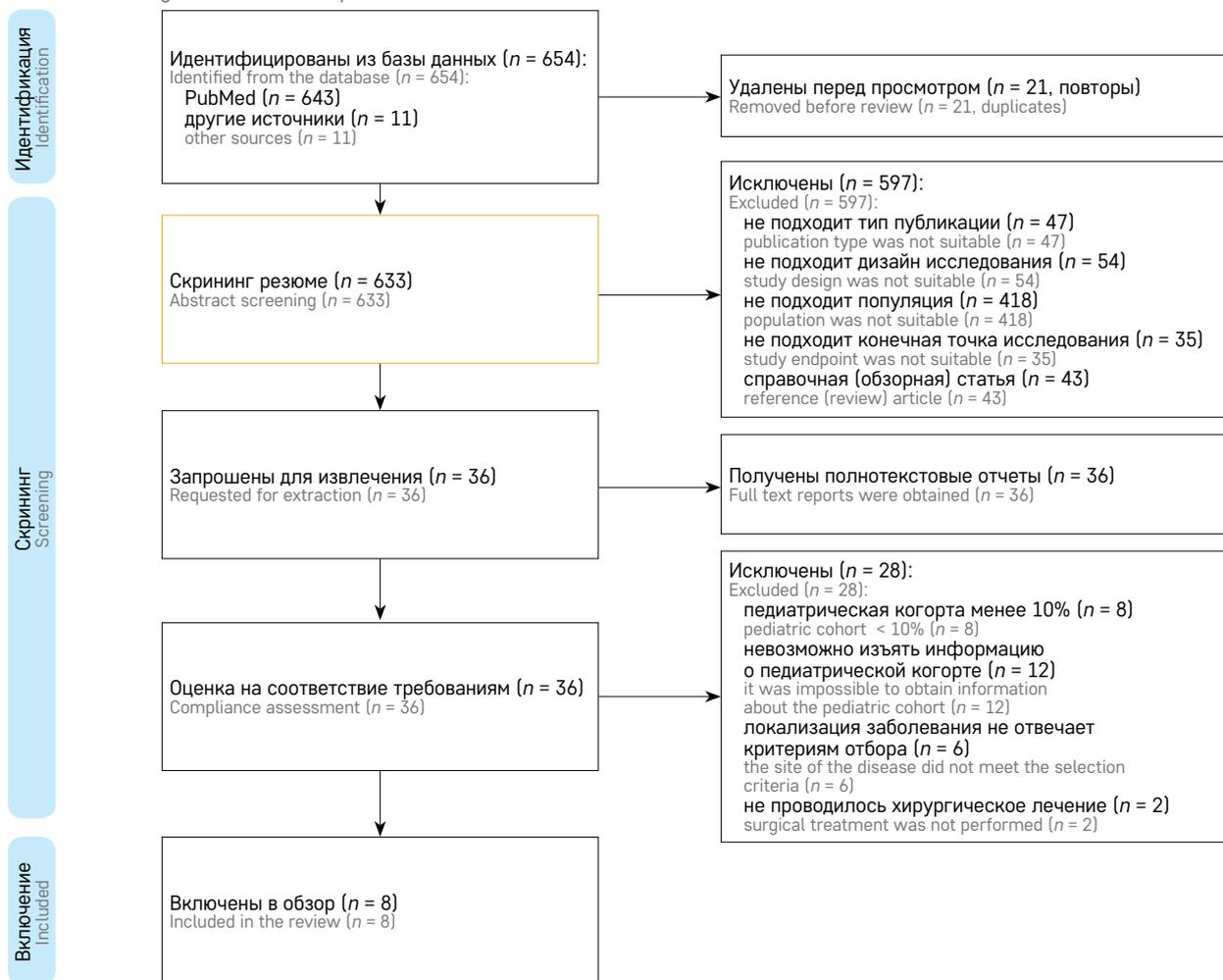
Y. Jia и соавт., посвященной связи между венозными тромбозами в гистологическом материале резецированных кист подъязычной железы и механическим сдавлением прилегающих к кисте вен, частота гистологически выявленных тромбозов вен составляет 58,52% [10]. Авторы указывают на влияние тромботических инцидентов на длительность лечения и возникновение некроза трансплантата при микрохирургических реконструкциях челюстно-лицевой области, а также отмечают необходимость применения антикоагулянтной терапии и мониторинга параметров гемостаза для ранней диагностики локальной внутрисосудистой коагулопатии [11]. Результаты и рекомендации данных публикаций нельзя в полной мере применить при заболеваниях челюстно-лицевой области у детей из-за большого возрастного смешения исследуемой когорты. Публикация J.M. Mask и соавт. с результатами ретроспективного исследования влияния сиролимуса при лечении низкопоточных сосудистых мальформаций на динамику проявлений коагулопатии у педиатрической когорты (15 пациентов, средний возраст 13 лет) исключена, так как

Рисунок

Схема отбора публикаций

Figure 1

A flowchart showing the selection of publications



хирургическое лечение не применялось [12]. Тем не менее отмечены аномально высокие уровни D-димера у всех пациентов в исследовании (медиана 2,78 мкг/мл). В 2 случаях наблюдалась тяжелая локальная коагулопатия с выраженными клиническими проявлениями. После лечения сиролimusом у 13 (87%) пациентов зафиксировано общее и стойкое снижение уровней D-димера на 2,66 мкг/мл ($p = 0,0032$), клинически это проявлялось уменьшением боли и отека. Сообщается о побочных эффектах терапии сиролimusом в виде мукозита у 5 пациентов и пневмонии в 1 случае, а также необходимости дополнительного применения низкомолекулярных гепаринов (НМГ) у 4 пациентов. Знания о наличии локальной внутрисосудистой коагулопатии у детей с низкопоточными сосудистыми мальформациями очевидны, а терапия сиролimusом способна уменьшать проявления коагулопатии при данной патологии, о чем свидетельствует снижение уровня D-димера и уменьшение клинических проявлений коагулопатии. Исследование влияния сиролимуса в комплексной терапии, включающей хирургическую коррекцию сосудистых мальформаций, у детей требует отдельного изучения и представляется актуальной проблемой. Еще одна исключенная публикация посвящена 25-летнему наблюдению в специализированном центре сосудистых аномалий за 6 детьми с массивными венозными и лимфатическими мальформациями с замедленным кровотоком [13]. У всех пациентов были клинические и лабораторные признаки внутрисосудистой коагулопатии, которая способствовала развитию опасных для жизни осложнений. К ним относятся кровоизлияние в мозг, массивные кровотечения из матки и толстой кишки, обширные тромбозы глубоких сосудов брюшной полости и малого таза и сильное кровохарканье. Один пациент скончался от тромбоэмболии легочной артерии и тромбоза глубоких сосудов. Другому пациенту была проведена ампутация ноги, чтобы устранить огромную сосудистую мальформацию из-за высокого риска осложнений и отсутствия функции конечности. Трем пациентам было проведено антикоагулянтное лечение, и у них уменьшились лабораторные и клинические признаки коагулопатии. Только один 6-летний пациент подходил под критерии обзора и имел обширную венозную мальформацию с замедленным кровотоком с поражением шеи. Имеются данные значения протромбинового времени (ПВ), уровня фибриногена, тромбоцитов и D-димера, данные о применении дальтепарина натрия и варфарина. Итогом прогрессирующей коагулопатии стали двусторонние подкорковые кровоизлияния в теменную и височную области, а затем формирование множественных флеболитов. Неврологический дефицит после критического инцидента

регрессировал частично на фоне кратковременной терапии дальтепаринном натрия, который был заменен на варфарин пожизненно. Целевое международное нормализованное отношение (МНО) поддерживалось в диапазоне от 2 до 3. Но хирургическое лечение данному пациенту не проводили, поэтому статья не может быть включена в обзор. Однако нужно учитывать, что массивные сосудистые мальформации с замедленным кровотоком – это всегда высокий риск локальной и генерализованной коагулопатии с развитием жизнеугрожающих осложнений, и необходимость регулярного коагуляционного скрининга таких пациентов актуальна для своевременной профилактики тромбогеморрагических осложнений. Другое исключенное из обзора исследование «случай–контроль» посвящено выявлению клинических и лабораторных факторов риска, связанных с тромботическими событиями у детей (пациенты младше 18 лет) с сосудистыми мальформациями [14]. Выборка содержит 46 пациентов, из них 23 имели тромботические осложнения, а остальные 23 включены в контрольную группу. В ходе анализа обнаружена связь между повышенными уровнями D-димера и тромботическими осложнениями (отношение шансов (ОШ) 17,1 (95% доверительный интервал (ДИ) 3,95–73,95; $p < 0,01$)). Кроме того, площадь поверхности мальформации более 10 см² (ОШ 8,19 (95% ДИ 1,08–62,2; $p = 0,042$)), наличие пальпируемых флеболитов (ОШ 85,29 (95% ДИ 3,75–1939,1; $p = 0,005$)) и увеличение возраста пациента (ОШ 1,33 (95% ДИ 1,06–1,66; $p = 0,013$)) были связаны с более высоким риском тромбоза у детей с сосудистыми мальформациями. В выборке нет пациентов с локализацией сосудистых мальформаций на голове и шее, а также нет указания на хирургические методы лечения и расчет выборки. Исследование K.W. Ricci и соавт. исключено из обзора, так как нет данных о локализации сосудистых мальформаций [15]. Тем не менее у 59 (21%) пациентов младше 18 лет с сосудистыми мальформациями с замедленным кровотоком в исследовании получены результаты о наличии локализованной внутрисосудистой коагулопатии (снижение фибриногена менее 1,5 г/л и повышение уровня D-димера ≥ 1 мкг/мл). Кровотечений или тромботических осложнений при проведении склеротерапии не наблюдалось. Профиль гемостаза ухудшался сразу после склеротерапии и имел тенденцию к нормализации в течение 24 ч после манипуляции. Антикоагулянтная терапия НМГ не влияла на риск возникновения кровотечения после склеротерапии. Результаты этих исследований не могут быть перенесены на когорту педиатрических пациентов с челюстно-лицевой патологией, требующих хирургической коррекции. После завершения скрининга в обзор включены лишь 8 публикаций, которые полно-

Таблица
Характеристика публикаций, включенных в исследование

Table
Characteristics of publications included in the study

№	Авторы, год и DOI публикации Authors, year and DOI of a publication	Размер выборки (< 18 лет/ челюстно-лицевая локализация) Sample size (< 18 years/cases with maxillofacial pathology)	Возраст, когорта/выборка < 18 лет (медиана и квартили; среднее ± стандартное отклонение) Age, cohort/sample < 18 years (median and quartiles; mean ± standard deviation)	Заболевание Disease	Результаты исследования Study results	Методы диагностики гемостаза Methods for the diagnosis of hemostasis	Вид вмешательства Type of intervention	Влияние тромбоза на результаты лечения Impact of thrombosis on treatment results	Антикоагулянтная терапия Anticoagulant therapy
1	J.M. Mack et al., 2021 [16], DOI: 10.1002/pbc.28824	25 (> 50%/36%)	15 (3–47) лет/нет данных 15 (3–47) years/no data	Низкотоочные сосудистые мальформации Low flow vascular malformations	Не было выявлено различий в показателях тестов гемостаза до и после лечения There were no differences in hemostasis test results before and after treatment	АПТВ, МНО, фибриноген, D-димер, уровень тромбозитов, тромбозастрография (ТЭГ-5000) APTT, INR, fibrinogen, D-dimer, platelet count, thromboelastography (TEG 5000)	Лечение лазером и/или проведение склеротерапии (не уточняется) Laser and/or sclerotherapy (not specified)	9	10
2	K.P. Mason et al., 2001 [17], DOI: 10.2214/ajr.177.6.1771359	29 (82,7%/44,8%)	11.4 ± 7.4 года/нет данных 11.4 ± 7.4 years/no data	Высоко- и низкотоочные сосудистые мальформации High and low flow vascular malformations	У 5 пациентов был повышенный уровень D-димера до лечения. Склеротерапия нарушает профиль коагуляции; а эмболизация нет Five patients had elevated D-dimer levels before treatment. Unlike embolization, sclerotherapy disrupts the coagulation profile	ПВ, фибриноген, D-димер, уровень тромбозитов PT, fibrinogen, D-dimer, platelet count	Склеротерапия (дегидратированный спирт и тетрадецилсульфат натрия) и/или эмболизация (цианоакриловые частицы или платиновые микроспирали) Sclerotherapy (dehydrated alcohol and sodium tetradecyl sulfate) and/or embolization (cyanoacrylic particles or platinum microcoils)	Нет данных No data	Нет данных No data
3	E. Garfein et al., 2015 [18], DOI: 10.1055/s-0035-1544181	7 (85,7%/100%)	9,2 (2–13) года/8 (2–12) лет 9,2 (2–13) years/8 (2–12) years	Саркомы Sarcomas	Один лоскут был осложнен венозным тромбозом, но был успешно спасен после тромбэктомии и ревизии с использованием венозного трансплантата One flap was complicated by venous thrombosis but was successfully salvaged after thrombectomy and revision using vein graft	Нет данных No data	Реконструкции средней зоны лица микрососудистым лоскутом или лоскутом на ножке после резекции онкологического очага Reconstruction of the midface with a microvascular or pedicled flap following oncologic resection	Не было No	Нет данных No data
4	Y.O. Arat et al., 2004 [19], DOI: 10.1001/archophth.122.8.1151	22 (18,2%/100%)	32,4 (0,4–79) года/9,5 (7–17) месяцев 32,4 (0,4–79) years/9,5 (7–17) months	Пороки развития орбитального венозного кровотока Orbital venous flow malformations	Уменьшение птоза, тромботических событий не было Reduction of ptosis, no thrombotic events	Нет данных No data	Наблюдение, склеротерапия (этанол), субтотальная иссечение с эмболизацией и склеротерапией (этанол) после операции Observation, sclerotherapy (ethanol), subtotal excision with embolization and sclerotherapy (ethanol) after surgery	Не было No	Нет данных No data

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5	A. B. Callahan et al., 2017 [20]. DOI: 10.1097/ JOP.0000000000000734	7 (14,3%/100%)	40 (13–61) лет/ 40 (13–61) years/ 13 years	Орбитальное варикозное расширение вен с артери- альным ком- понентом Orbital varices with arterial components	Диплопия, боль, гематома, птоз регрессировали на 3 года. Ре- цидив. На ангиографии артери- альные коллатерали и затруд- нение венозного оттока Diplopia, pain, hematoma, ptosis had regressed for 3 years. Recapse. Angiography showed arterial collaterals and venous outflow obstruction	Нет данных No data	Трансвенозная эмболизация ониксом с последующей ре- секцией эмболизированного очага Transvenous embolization with Onyx followed by the resection of the embolized lesion	Не было No	Нет данных No data
6	A. Dompmartin et al., 2008 [21]. DOI: 10.1001/ archderm.144.7.873	140 (~ 30%/37,1%)	26,8 ± 16,4 года/нет данных 26,8 ± 16,4 years/ no data	Венозные мальформа- ции Venous malformations	В 42% случаев выявлена коагу- лопатия. Мальформация более 10 см ² , наличие флеболитов связано с развитием коагуло- патии. Уровень D-димера при терапии снижался и это ассоциировалось с уменьшени- ем боли после хирургического лечения Coagulopathy was found in 42%. Malformations of > 10 cm ² and the presence of phlebitis were associated with the development of coagulopathy. D-dimer level decreased with LMWH therapy and it was associated with the reduction of pain after surgery	АПТВ, МНО, фи- бриноген, D-димер, уровень тромбо- цитов APTT, INR, fibrinogen, D-dimer, platelet count	Хирургическое лечение (не уточняется) Surgical treatment (not specified)	Местная боль из-за тромбоза при наличии флеболитов и мальфор- мации более 10 см ² Local pain due to thrombosis in the presence of phlebitis and malformations of > 10 cm ²	При повыше- нии D-димера НМГ 100 AntiXa/кг/сут 10–20 дней и более до исчезновения болевого синдрома In case of elevated D-dimer levels, LMWH 100 AntiXa/kg/ day for 10–20 days or more until the pain disappeared
7	S. Ali et al., 2016 [22]. DOI: 10.1177/0268555516653380	116 (43%/23%)	23,3 ± 15,2 года/нет данных 23,3 ± 15,2 years/ no data	Венозные мальформа- ции Venous malformations	В 76% случаев симптомов боли, отека, кровотечений, улучшение функциональной активности. Тромботические осложнения у 4% Seventy-six % of patients showed the reduction of symptoms of pain, swelling, bleeding and the improvement in functional activity. Thrombotic complications were observed in 4% of patients	Нет данных No data	Склеротерапия (этанол) Sclerotherapy (ethanol)	Некроз кожи у 3% паци- ентов Skin necrosis in 3% of patients	Нет данных No data
8	R. Jia et al., 2014 [23]. DOI: 10.1001/ jamaophthamol.2013.8229	33 (~ 30%/100%)	23,8 ± 11,2 года/нет данных 23,8 ± 11,2 years/ no data	Венозные низкопоточ- ные маль- формации орбиты Low flow venous malformations of the orbit	Никаких системных или функ- циональных глазных ослож- нений не наблюдалось. У всех пациентов отмечались умень- шение объема поражений и ре- гресс клинических симптомов No systemic or functional ocular complications were observed. All patients showed decreased volume of their lesions and improvement in clinical symptoms.	Нет данных No data	Внутриочаговые инъекции Pinguapgtmucin Pinguangmycin	Нет данных No data	Нет данных No data

Примечание. АПТВ – активированное парциальное тромбластиновое время.

Note. LMWH – low molecular weight heparin, APTT – activated partial thromboplastin time, INR – international normalized ratio, PT – prothrombin time.

стью соответствуют критериям включения. Необходимые для обзора данные публикаций представлены в таблице [16–23].

Среди 8 отобранных публикаций 5 (62,5%) описывают венозные низкопоточные сосудистые мальформации, 1 (12,5%) – высокопоточные и 1 (12,5%) – смешанные сосудистые мальформации, а еще 1 (12,5%) посвящена реконструктивным операциям при онкологической патологии. Педиатрическая когорта в отобранных исследованиях была более 10%, но смешана со взрослыми пациентами. Извлечение необходимых данных пациентов до 18 лет для анализа представляется трудновыполнимой задачей, тем более что в 5 (62,5%) публикациях данные о проведении тестов гемостаза отсутствуют. Также влияние тромботических событий на исходы хирургического лечения не является конечной точкой ни одного исследования. Тем не менее гипотеза существования анатомических и патофизиологических оснований для развития и прогрессирования локальной внутрисосудистой коагулопатии в тромбогеморрагические осложнения при наличии челюстно-лицевой патологии у педиатрической когорты во время хирургической коррекции представляется вероятной [24]. Отсутствие влияния тромботических изменений гемостаза на исход хирургического лечения в 6 (75%) публикациях не опровергает данное утверждение. В 3 (37,5%) публикациях данные АПТВ, МНО, уровни фибриногена, D-димера и количество тромбоцитов используются для диагностики локальной внутрисосудистой коагулопатии, и только в 1 из этих исследований используется интегральный метод контроля гемостаза – тромбоэластография. Местными проявлениями локальной внутрисосудистой коагулопатии в исследованиях были локальная боль и некротические изменения тканей очага. Данные о проведении антикоагулянтной терапии для лечения локальной внутрисосудистой коагулопатии содержит лишь одно из отобранных исследований. Применялся эноксапарин натрия по следующему алгоритму: при повышении уровня D-димера и нормальном фибриногене – подкожно в дозе 100 AntiХа/кг/сут сроком на 20 дней и более до исчезновения болевого синдрома, а при повышении уровня D-димера и низком фибриногене – подкожно в дозе 100 AntiХа/кг/сут за 10 дней до интервенционного лечения и после до исчезновения болевого синдрома [21]. Эффект антикоагулянтной терапии НМГ уменьшил проявления боли и местных изменений тканей очага за счет коррекции локальной внутрисосудистой коагулопатии.

Наш обзор литературы имеет ограничения, он включает только общедоступный быстрый поиск информации в системе PubMed. Выборка включенных в исследование публикаций мала, включает

не все хирургические заболевания челюстно-лицевой области, имеет малочисленную педиатрическую когорту, некоторые данные трудно извлечь из-за смешанной с пациентами старше 18 лет выборки, часть публикаций не имеет лабораторных подтверждений локальной внутрисосудистой коагулопатии и полного описания всех этапов профилактики и терапии тромбогеморрагической патологии во время хирургического лечения. Как таковой наш результат, скорее всего, является постановкой вопроса, а не полноценным ответом на него. Кроме того, этот систематический обзор литературы актуален на 1 декабря 2023 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нарушения гемостаза и их влияние на исходы хирургического лечения у популяции детей с патологией челюстно-лицевой области представляют проблему для клиницистов и недостаточно изучены. Анатомо-патофизиологические особенности челюстно-лицевой патологии (низкий локальный кровоток, большой размер патологического очага, наличие в нем опухолевых клеток), фармакологические эффекты терапии и методы хирургической коррекции могут влиять на развитие и прогрессирование локальной внутрисосудистой коагулопатии. Проявлениями локальной внутрисосудистой коагулопатии являются локальная боль и некротические изменения тканей очага. Рекомендации по выбору методов диагностики и мониторинга коагулопатии при данной патологии у педиатрических пациентов отсутствуют, поэтому разумным представляется совместное применение стандартных и интегральных тестов гемостаза как дополняющих друг друга. Применение НМГ может уменьшить клинические проявления локальной внутрисосудистой коагулопатии. Проблема влияния тромботических событий на исходы хирургического лечения, а также выбора методов лабораторной оценки и терапии нарушений гемостаза у детей с челюстно-лицевой патологией не может быть решена с помощью систематического обзора литературы и нуждается в изучении при проведении хорошо спланированных исследований [25]. Данный обзор может являться основой для их планирования.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

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

Pavlova D.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9558-4234>

Trakhtman P.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0231-1617>

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

Литература / References

- Kushner A., West W.P., Khan Suheb M.Z., Pillarisetty L.S. Virchow Triad. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan.
- Martinelli I., Bucciarelli P., Mannucci P.M. Thrombotic risk factors: basic pathophysiology. *Crit Care Med* 2010; 38 (2 Suppl): S3–9. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3181c9cbd9
- Crochemore T., Görlinger K., Lance M.D. Early Goal-Directed Hemostatic Therapy for Severe Acute Bleeding Management in the Intensive Care Unit: A Narrative Review. *Anesth Analg* 2024; 138 (3): 499–513. DOI: 10.1213/ANE.0000000000006756
- Tricco A.C., Lillie E., Zarin W., O'Brien K.K., Colquhoun H., Levac D., et al. PRISMA Extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR): Checklist and Explanation. *Ann Intern Med* 2018; 169 (7): 467–73. DOI: 10.7326/M18-0850
- Rossell-Perry P. Flap Necrosis after Palatoplasty in Patients with Cleft Palate. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 516375. DOI: 10.1155/2015/516375
- Omesiete W.I., Walker J.A. 3rd, Yu J.C. Venous Thromboembolism Incidence After Craniofacial Surgery. *Ann Plast Surg* 2018; 80 (5): 561–4. DOI: 10.1097/SAP.0000000000001353
- Forouzanfar T., Heymans M.W., van Schuilenburg A., Zweegman S., Schulten E.A. Incidence of venous thromboembolism in oral and maxillofacial surgery: a retrospective analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2010; 39 (3): 256–9. DOI: 10.1016/j.ijom.2009.10.024
- Zhang C., Sun J., Zhu H., Xu L., Ji T., He Y., et al. Microsurgical free flap reconstructions of the head and neck region: Shanghai experience of 34 years and 4640 flaps. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2015; 44 (6): 675–84. DOI: 10.1016/j.ijom.2015.02.017
- Hoffman G.R., Islam S., Eisenberg R.L. Microvascular reconstruction of the mouth, jaws, and face: experience of an Australian oral and maxillofacial surgery unit. *J Oral Maxillofac Surg* 2012; 70 (5): e371–7. DOI: 10.1016/j.joms.2012.01.016
- Jia Y., Zhao Y., Chen X. Clinical and histopathological review of 229 cases of ranula. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci* 2011; 31 (5): 717. DOI: 10.1007/s11596-011-0589-7
- Jonas R., Schaal T., Krimmel M., Gülicher D., Reinert S., Hoffmann J. Monitoring in microvascular tissue transfer by measurement of oxygen partial pressure: four years experience with 125 microsurgical transplants. *J Craniomaxillofac Surg* 2013; 41 (4): 303–9. DOI: 10.1016/j.jcms.2012.10.008
- Mack J.M., Verkamp B., Richter G.T., Nicholas R., Stewart K., Cray S.E. Effect of sirolimus on coagulopathy of slow-flow vascular malformations. *Pediatr Blood Cancer* 2019; 66 (10): e27896. DOI: 10.1002/pbc.27896
- Mazereeuw-Hautier J., Syed S., Leisner R.I., Harper J.I. Extensive venous/lymphatic malformations causing life-threatening haematological complications. *Br J Dermatol* 2007; 157 (3): 558–63. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2007.08003.x
- Sepúlveda P., Zavala A., Zúñiga P. Factors associated with thrombotic complications in pediatric patients with vascular malformations. *J Pediatr Surg* 2017; 52 (3): 400–4. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2016.10.048
- Ricci K.W., Chute C., Hammill A.M., Dasgupta R., Patel M. Retrospective study of hematologic complications in patients with slow-flow vascular malformations undergoing sclerotherapy. *Pediatr Blood Cancer* 2020; 67 (10): e28277. DOI: 10.1002/pbc.28277
- Mack J.M., Pierce C.D., Richter G.T., Spray B.J., Nicholas R., Lewis P.S., et al. Analyzing coagulation dynamics during treatment of vascular malformations with thromboelastography. *Pediatr Blood Cancer* 2021; 68 (2): e28824. DOI: 10.1002/pbc.28824
- Mason K.P., Neufeld E.J., Karian V.E., Zurakowski D., Koka B.V., Burrows P.E. Coagulation abnormalities in pediatric and adult patients after sclerotherapy or embolization of vascular anomalies. *AJR Am J Roentgenol* 2001; 177 (6): 1359–63. DOI: 10.2214/ajr.177.6.1771359
- Garfein E., Doscher M., Tepper O., Gill J., Gorlick R., Smith R.V. Reconstruction of the pediatric mid-face following oncologic resection. *J Reconstr Microsurg* 2015; 31 (5): 336–42. DOI: 10.1055/s-0035-1544181
- Arat Y.O., Mawad M.E., Boniuk M. Orbital venous malformations: current multidisciplinary treatment approach. *Arch Ophthalmol* 2004; 122 (8): 1151–8. DOI: 10.1001/archophth.122.8.1151
- Callahan A.B., Meyers P.M., Garrity J.A., Son J.H., Petris C., Kazim M. Low-Flow Arterialized Venous Malformations of the Orbit. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg* 2017; 33 (4): 256–60. DOI: 10.1097/IOP.0000000000000734
- Domp Martin A., Acher A., Thibon P., Tourbach S., Hermans C., Deneys V., et al. Association of localized intravascular coagulopathy with venous malformations. *Arch Dermatol* 2008; 144 (7): 873–7. DOI: 10.1001/archderm.144.7.873
- Ali S., Weiss C.R., Sinha A., Eng J., Mitchell S.E. The treatment of venous malformations with percutaneous sclerotherapy at a single academic medical center. *Phlebology* 2016; 31 (9): 603–9. DOI: 10.1177/0268355516633380
- Jia R., Xu S., Huang X., Song X., Pan H., Zhang L., et al. Pingyangmycin as first-line treatment for low-flow orbital or periorbital venous malformations: evaluation of 33 consecutive patients. *JAMA Ophthalmol* 2014; 132 (8): 942–8. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2013.8229
- Решетов И.В. Опухоли органов головы и шеи: технология лечения и реабилитация пациентов: реконструкция тканей. М., 2016. 520 с. [Reshetov I.V. Tumors of organs of head and neck: technology of treatment and rehabilitation of patients: tissue reconstruction. M.: 2016. 520 p. (In Russ.)].
- Румянцев А.Г., Варфоломеева С.П., Грачев Н.С., Карачунский А.И., Новичкова Г.А. Принципы и инструменты доказательной медицины в детской гематологии/онкологии. *Доктор.ру* 2015; 10 (111): 6–13. [Rumyantsev A.G., Varfolomeeva S.P., Grachev N.S., Karachunskiy A.I., Novichkova G.A. Principles and tools of evidence-based medicine in pediatric hematology/oncology. *Doctor.ru* 2015; 10 (111): 6–13. (In Russ.)].

ТЕЗИСЫ

19–20
ДЕКАБРЯ'24



ШКОЛА

**«ИНФЕКЦИОННЫЕ
ОСЛОЖНЕНИЯ В ДЕТСКОЙ
ОНКОЛОГИИ, ГЕМАТОЛОГИИ
И ИММУНОЛОГИИ. ПРОБЛЕМЫ
ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ»**

Случай диссеминированного мукормикоза у пациента с острым лимфобластным лейкозом

А.О. Верещагина, М.С. Васильева, Л.А. Хачатрян, Г.Г. Солопова

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

Введение. Инвазивный мукормикоз (ММ) вызывается грибами порядка *Mucorales* и характеризуется крайне агрессивным течением, в первую очередь у иммунокомпрометированных пациентов. Особенностью грибов рода *Mucorales* является ангиотропность и способность к гематогенной диссеминации в различные органы и ткани. Для ММ характерно поражение придаточных пазух носа (ППН), орбит, головного мозга, легких, желудочно-кишечного тракта, кожи и мягких тканей, а также развитие диссеминированной формы. У пациентов с гемобластомами наиболее часто встречаются рино-орбитальная и легочная формы заболевания. По данным публикаций описаны единичные случаи поражения таких органов, как щитовидная железа, сердце, паренхиматозные органы.

Цель. Демонстрация случая диссеминированного ММ с поражением легких, щитовидной железы, печени, селезенки и почек у пациента с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ).

Материалы и методы. У пациента 1 года жизни был установлен диагноз ОЛЛ, В-II иммуновариант, гиперплоидный клон, ЦНС I и начата терапия по протоколу ALL-MB 2015. На этапе индукции отмечалось развитие фебрильной нейтропении, энтероколита и правосторонней пневмонии. В связи с отрицательной клинико-рентгенологической динамикой на фоне антибактериальной терапии широкого спектра действия и развитием тотального поражения правого легкого ребенок был госпитализирован в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. При поступлении и уточнении эпидемиологического анамнеза было установлено наличие плесени по месту проживания ребенка. В связи с подозрением на развитие инвазивного микоза пациенту была назначена комбинированная противогрибковая терапия липосомальной формой амфотерицина В (7 мг/кг/сут) и изавуконазолом (нагрузочная 30 мг/кг/сут, далее 10 мг/кг/сут).

Результаты и обсуждение. При проведении компьютерной томографии (КТ) грудной и брюшной полости с контрастом выявлены очаги в печени, селезенке, почках, правой доле щитовидной железы, а также воспалительные изменения в левом легком, на фоне тотальной инфильтрации правого легкого с вовлечением сосудисто-бронхиального дерева, формированием абсцесса в средней доле. С диагностической целью была выполнена бронхоскопия, по данным которой выявлено сужение главного бронха справа за

счет отека и фибриновых наложений. В связи с обнаружением несептированного мицелия при микроскопии бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) с калькофлюором белым (КФБ) был установлен диагноз вероятного ММ. По жизненным показаниям было проведено хирургическое вмешательство - правосторонняя пульмонэктомия, перикардотомия. При исследовании резецированных тканей перикарда и легкого в гистологических препаратах с окраской по Grocott, PAS и при микроскопии с КФБ выявлен широкий лентовидный мицелий, ветвящийся под прямым углом. При секвенировании по Сэнгеру жидкости БАЛ и крови обнаружена *Lichtheimia* spp. Таким образом, пациенту был установлен диагноз доказанный ММ правого легкого с вероятной диссеминацией в щитовидную железу, печень, селезенку и почки, а также распространение на левое легкое. На фоне проведения комбинированной антибактериальной и противогрибковой терапии через 2 мес отмечалась стабилизация клинического состояния пациента, по данным КТ сохранение ранее выявленных очагов в паренхиматозных органах, нивелирование очагов в левом легком.

Заключение. ММ относится к редким формам инвазивных микозов с характерным прогрессирующим течением. Знание факторов риска и особенностей клиническо-рентгенологической картины, в том числе возможность поражения ММ любых органов и тканей важно для ранней диагностики и своевременного начала терапии. Данный клинический случай демонстрирует необходимость раннего проведения визуализации не только типичных органов поражения (легких, ППН), но и паренхиматозных, включая органы брюшной полости и щитовидную железу. Для своевременной диагностики ММ помимо визуализации необходимо проведение инвазивных манипуляций (бронхоскопии, биопсии) с последующей микроскопией с КФБ и микробиологическим исследованием субстратов. В дополнение могут быть рекомендованы молекулярные методы исследования идентификации грибов. Наиболее эффективными препаратами для лечения ММ являются липосомальная/липидная формы амфотерицина В в дозе не менее 5 мг/кг/сут с одновременным или последующим назначением изавуконазола или позаконазола. Для достижения наибольшего эффекта при лечении ММ помимо противогрибковой терапии рекомендовано проведение хирургического вмешательства с максимально допустимым иссечением пораженных тканей.

Случай менингоэнцефалита, вызванного *Listeria monocytogenes*, у пациентки с глиобластомой с мультифокальным поражением

И.Г. Вилесова, Н.В. Суворова, Е.А. Сальникова, А.В. Артемов, Е.В. Розанцева, Ж.В. Маркова, Л.И. Папуша, Г.Г. Солопова

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

Введение. Инфекции, вызванные *Listeria monocytogenes* диагностируются преимущественно у новорожденных и иммунокомпрометированных лиц. Клиническая картина может варьировать от бессимптомного носительства до системных инфекций, включая сепсис, менингоэнцефалит, абсцессы головного мозга, ромбовидный энцефалит. Инфекции, вызванные *Listeria monocytogenes*, характеризуются высокой смертностью, несмотря на проводимую антибактериальную терапию.

Материалы и методы. У пациентки в возрасте 11 лет был установлен диагноз глиобластома с мультифокальным поражением головного мозга. На фоне проведения комплексного лечения – лучевой терапии (ЛТ) с СОД 45 Гр и иммунотерапии (ниволумаб, пембролизумаб) была достигнута стабилизация состояния. Через 10 мес в связи с прогрессией заболевания пациентке был проведен повторный курс ЛТ (СОД 54 Гр), химиотерапия (бевацизумаб/иринотекан) и длительный курс дексаметазона в связи с развитием постлучевого некроза и отека головного мозга. Через 2 мес отмечено развитие острой неврологической симптоматики (диплопия, атаксия, афазия нарушение походки) с прогрессией в течение суток до угнетения сознания и необходимостью перевода в ОРИТ. Из эпидемиологического анамнеза известно, что до клинического ухудшения состояния пациентка ела сырые морепродукты (суши). По данным МРТ головного мозга на фоне постлучевого некроза в лобной и теменной долях правого полушария выявлена отрицательная динамика – появление пато-

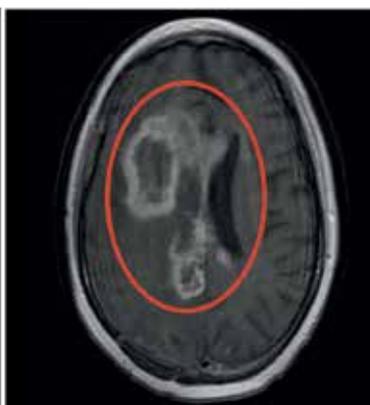
логических изменений правой лобно-теменной области и ствола мозга (рисунок 1). При исследовании спинномозговой жидкости был выявлен цитоз 1290 кл/мкл (84% нейтрофилы), при микробиологическом и молекулярном исследовании идентифицирована *Listeria monocytogenes*, впоследствии была идентифицирована в крови пациентки. По данным антибиотикограммы подтверждена чувствительность к ампициллину, меропенему и сульфаметоксазолу/триметоприму. В дальнейшем на фоне проводимой комбинированной антибактериальной терапии у пациентки отмечалось развитие септического шока и полиорганной недостаточности (ПОН). Через 3 нед антибактериальной терапии отмечалась санация ликвора и кратковременная стабилизация состояния. Однако в последующем на фоне прогрессии ПОН по данным МРТ была зафиксирована прогрессия основного заболевания (рисунок 2). Несмотря на проведение массивной комбинированной противомикробной и сопроводительной терапии через 6 мес пациентка умерла.

Заключение. Диагностика и терапия листериозного менингоэнцефалита у пациентов с опухолевым поражением головного мозга является трудной задачей, требует междисциплинарного взаимодействия детских онкологов с рентгенологами, службой инфекционного контроля, реаниматологами. В связи с тем, что наиболее частый путь инфицирования – алиментарный, необходимо помнить о значимости соблюдения профилактических мер для иммунокомпрометированных пациентов

Рисунок 1



Рисунок 2



Исследование устойчивости к цефидероколу грамотрицательных бактерий *in vitro*

А.Д. Воропаев, Ж.В. Маркова, О.С. Кожушная, А.В. Кондрашова, Г.Г. Солопова

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

Цель. Определить *in vitro* устойчивость к цефидероколу в выборке штаммов грамотрицательных бактерий для оценки ее распространенности и изучения перспектив применения данного препарата против штаммов с множественной лекарственной устойчивостью.

Материалы и методы. В ретроспективное исследование включено 33 штамма грамотрицательных бактерий: *K. pneumoniae* ($n = 14$), *P. aeruginosa* ($n = 10$), *S. maltophilia* ($n = 4$), *E. coli* ($n = 3$) и *A. baumannii* ($n = 2$), выделенных из крови, бронхоальвеолярного лаважа, спинномозговой жидкости, раневого отделяемого и других диагностически значимых биоматериалов пациентов НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева с диагностированными бактериальными инфекционными осложнениями. Отбор штаммов для тестирования был основан на выявлении множественной резистентности, в том числе к препаратам резерва – карбапенемам, цефтазидим-авибактаму и цефтазолан-тазобактаму. Видовая идентификация производилась при помощи времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI TOF MS). Карбапенемазы выявлялись с помощью различных фенотипических тестов и ПЦР. Устойчивость к антибактериальным препаратам исследовалась с помощью диско-диффузионного метода и определения минимальных подавляющих концентраций (МПК) методом микро-разведений в бульоне. Устойчивость к цефидероколу исследовалась при помощи метода градиентной диффузии и интерпретировалась в соответствии с рекомендациями МАКМАХ «Определение чувствительности микроорганизмов к antimикробным препаратам (2024)».

Результаты и обсуждение. В ходе проведения исследования было установлено, что МПК цефидерокола в группе энтеробактерий была значительно выше, 5 (29%) штаммов – 3 *K. pneumoniae* и 2 *E. coli*

демонстрировали устойчивость к цефидероколу. При этом средняя МПК у *E. coli* была выше, чем у *K. pneumoniae*: 7 и 1 мг/л соответственно. Все устойчивые к цефидероколу штаммы продуцировали карбапенемазу NDM и, соответственно, проявляли устойчивость к цефтазидиму-авибактаму. В то же время в отношении данных штаммов наблюдался синергизм цефтазидима-авибактама и азтреонама, а также не выявлялась устойчивость к полимиксинам. Среди прочих микроорганизмов не было выявлено устойчивых к цефидероколу штаммов, а средние МПК были значительно ниже: *A. baumannii* – 0,4 мг/л, *P. aeruginosa* – 0,2 мг/л, *S. maltophilia* – 0,05 мг/л. Штаммы *K. pneumoniae* ($n = 1$) и *P. aeruginosa* ($n = 6$), в отношении которых не выявлен синергизм комбинации цефтазидима-авибактама и азтреонама, были чувствительны к цефидероколу. Результаты соотносимы с данными литературы: наибольший уровень устойчивости к цефидероколу наблюдается среди штаммов *Enterobacterales*, устойчивых к карбапенемам, цефтазидиму-авибактаму и продуцирующих карбапенемазу NDM. В то же время среди штаммов *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* также встречается устойчивость и более подробно изучены возможные модификации транспортеров железа, приводящие к такой устойчивости, но в нашей выборке на данный момент подобные штаммы не выявлены.

Заключение. По результатам исследования и данным литературы устойчивость к цефидероколу находится на достаточно низком уровне, что делает перспективным его применение в отношении микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью. В нашей выборке не выявлено штаммов, одновременно устойчивых к цефидероколу и комбинации цефтазидима-авибактама и азтреонама.

Диссеминированная БЦЖ-инфекция у пациента с тяжелой комбинированной иммунной недостаточностью после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

М.О. Голощапова, О.А. Слесарчук, А.Л. Лаберко, Е.Н. Долгушина, П.В. Шевелева, А.А. Осипова, Т.А. Быкова, Л.С. Зубаровская

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

Цель. Диссеминированная БЦЖ-инфекция значительно ухудшает прогноз пациентов с тяжелой комбинированной иммунной недостаточностью (ТКИН), несмотря на выполнение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Целью данной работы является демонстрация клинического случая проведения алло-ТГСК пациенту с ТКИН на фоне диссеминированной БЦЖ-инфекции.

Материалы и методы. Доношенный, полновесный ребенок, не проходивший неонатальный скрининг на первичные иммунодефициты (2022 г.), был вакцинирован БЦЖ в роддоме. Спустя 4 мес в области вакцинации наблюдалось развитие инфильтрата, в дальнейшем – формирование холодного абсцесса с периодическим нагноением и образованием язвенного дефекта, проводилась местная терапия. В возрасте 6 месяцев у ребенка диагностирована двусторонняя полисегментарная пневмония (исследование бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) не проводилось). С 9 месяцев наблюдалось появление множественных очагов панникулита, выявлена гепатоспленомегалия. В возрасте 9 месяцев был верифицирован диагноз ТКИН (дефицит IL2RG), заподозрена диссеминированная БЦЖ-инфекция. Была назначена антимикобактериальная терапия: изониазид, рифампицин, левофлоксацин, амикацин, линезолид. Для выполнения алло-ТГСК ребенок госпитализирован в трансплантационный центр. На фоне антимикобактериальной терапии наблюдалось появление множественных диссеминированных инфильтратов подкожно-жировой клетчатки, были выявлены очаги в селезенке. При исследовании БАЛ методом люминесцентной микроскопии были выявлены микобактерии

с дальнейшей идентификацией *M. Bovis* при микробиологическом исследовании. В возрасте 10 месяцев ребенку была выполнена алло-ТГСК от гаплоидентичного донора. В посттрансплантационном периоде отмечалось развитие воспалительного синдрома восстановления иммунитета, сопровождавшегося рецидивирующей лихорадкой на фоне диссеминации микобактериальной инфекции с поражением костей, мягких тканей (абсцесс левого бедра), очаговых изменений головного мозга, в связи с чем проводилась терапия антагонистами рецептора интерлейкина-6, и добавлен этамбутол. Несмотря на проводимую терапию, наблюдалось появление новых множественных очаговых изменений головного мозга, появление очаговых изменений в печени. В возрасте 1 года 6 месяцев, спустя 7,5 мес после алло-ТГСК, констатирован летальный исход.

Результаты и обсуждение. У пациента с ТКИН после алло-ТГСК на фоне воспалительного синдрома восстановления иммунитета, несмотря на проведение массивной антимикобактериальной терапии, отмечалось рефрактерное течение БЦЖ-инфекции с развитием дальнейшей прогрессии и летального исхода. Данный клинический пример демонстрирует позднее проведение диагностики и терапии как БЦЖ-инфекции, так и ТКИН, и как следствие, позднее выполнение алло-ТГСК.

Заключение. Своевременная диагностика ТКИН, ставшая возможной благодаря включению первичных иммунодефицитов в неонатальный скрининг, раннее назначение антимикобактериальной профилактики у БЦЖ-вакцинированных пациентов, а также раннее выполнение алло-ТГСК может значительно улучшить прогноз пациентов.

Клинический случай хирургического лечения инвазивного микоза легких у пациента с апластической анемией после повторной аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

Е.Е. Захаров, О.А. Слесарчук, Е.Н. Долгушина, П.В. Шевелева, А.А. Осипова, Н.Н. Гургенидзе, А.Н. Швецов, А.Л. Акопов, М.О. Попова, Т.А. Быкова, Л.С. Зубаровская, А.Д. Кулагин

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

Цель. Пациенты с заболеваниями системы крови, сопровождающимися длительным периодом агранулоцитоза и иммуносупрессии, подвержены высокому риску заболевания инвазивными микозами (ИМ). В ряде случаев помимо антимикотической терапии необходимо проведение хирургических методов лечения. Целью данной работы является демонстрация клинического случая комбинированной терапии ИМ легких у пациента после повторной аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК).

Материалы и методы. Пациенту в возрасте 4 лет был установлен диагноз: приобретенная идиопатическая апластическая анемия, сверхтяжелая форма (АА). В связи с неэффективностью 2 курсов иммуносупрессивной терапии в возрасте 8 лет была выполнена алло-ТГСК от гаплоидентичного донора. В посттрансплантационном периоде на фоне противогрибковой профилактики препаратом из группы эхинокандинов был диагностирован вероятный аспергиллез легких на основании следующих результатов исследований: очагово-инфильтративные изменения в обоих легких, положительный галактоманнан (ГМ) в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). В соответствии с международными рекомендациями была назначена терапия препаратами из группы триазолов (вориконазол, изавуконазол). В связи с неприживлением трансплантата пациенту была выполнена повторная алло-ТГСК, однако приживления вновь достигнуто не было. Учитывая сохранение очагово-инфильтративных

изменений в легких, терапия была модифицирована на комбинацию амфотерицина В с эхинокандином. После проведения 3-й алло-ТГСК было достигнуто приживление трансплантата, восстановление гемопоэза и иммунная реконституция. Несмотря на проведение трехкомпонентной комбинированной противогрибковой терапии (триазол, полиен, эхинокандин) отмечалась дальнейшая отрицательная динамика – появление массивной инфильтрации верхней доли левого легкого с образованием полостей распада; в жидкости БАЛ – рост *Aspergillus fumigatus*. В связи с отсутствием эффекта через 17 месяцев терапии была выполнена операция – удаление верхней доли левого легкого. В тканях резецированного легкого был выявлен септированный мицелий с морфологическими характеристиками, соответствующими грибам рода *Aspergillus*. На фоне продолжения противогрибковой терапии триазолами отмечался регресс инфильтративных изменений в обоих легких.

Результаты и обсуждение. Длительный период агранулоцитоза (более 4,7 года) у пациента с АА и выполнение повторных алло-ТГСК осложнились развитием инвазивного аспергиллеза легких. Неэффективность консервативной терапии потребовала мультидисциплинарного подхода и проведения хирургического лечения.

Заключение. В случаях неэффективности противогрибковой терапии ИМ у пациентов с заболеваниями системы крови, в том числе после алло-ТГСК, хирургическая тактика является значимой стратегией для уточнения диагноза и улучшения результатов терапии.

Мицелиальные грибы, идентифицированные методами молекулярной биологии у иммунокомпрометированных детей НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева

О.С. Кожушная, Ж.В. Маркова, А.Д. Воропаев, Н.В. Суворова, А.В. Верещагина, Г.А. Новичкова, Г.Г. Солопова

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

Введение. Инвазивные микозы (ИМ), ассоциированные с мицелиальными грибами, являются значимой причиной заболеваемости и летальности иммунокомпрометированных пациентов. В эпидемиологической структуре наиболее широко распространенным является аспергиллез, однако в течение последнего десятилетия все чаще выявляются более редкие формы ИМ, в том числе вызванные нетипичными, неклиническими видами грибов.

Цель. Представить разнообразие возбудителей плесневых грибов, идентифицированных у иммунокомпрометированных пациентов в клиническом материале при диагностике грибковых инфекций методами молекулярной биологии (ПЦР, секвенирование) в бактериологической лаборатории НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Материалы и методы. Проспективно-ретроспективное исследование было проведено за 5-летний период (2020–2024 гг.). Проведение молекулярно-генетической диагностики было необходимо при отсутствии микробиологической идентификации патогена у пациента с вероятным/доказанным в соответствии с критериями EORTC ИМ либо при невозможности идентификации полученной культуры грибов. Для идентификации отдельных видов либо комплексов видов плесневых грибов использовались пан-грибковые праймеры к ITS локусам, праймеры и специфичные TaqMan зонды к 18S субъединице РНК.

Результаты. За период с 2020–2024 гг. в результате молекулярной диагностики возбудителей грибковых инфекций у иммунокомпрометированных пациентов были выявлены около 20 видов мицелиальных грибов: *Oxyporus corticola* (1), *Schizophyllum commune* (1), *Rhizopus oryzae* (3), *Rhizopus microspores* (1), *Rhizopus arrhizus* (2), *Rhizomucor pussilus/miehei* (10), *Mucor racemosus* (1), *Mucor indicus* (1), *Mucor circinelloides* (1), *Microsporium canis* (1), *Microascus cirrosus* (2), *Lichtheimia* sp. (7),

Fusarium sp. (2), *Gymnascella hyalinospora* (1), *Aspergillus flavus* (6), *Aspergillus fumigatus* (11), *Aspergillus lentulus* (1), *Aspergillus ustus* (2), *Aspergillus pseudoglacus* (1), *Aspergillus niger* (1), *Purpureocillium lilacinum* (1).

Заключение. Исследован видовой состав плесневых грибов, выделенных из различного клинического материала при диагностике грибковых инфекций легких и других внутренних органов у иммунокомпрометированных пациентов. Наиболее распространенными видами при инвазивных микозах являлись виды рода *Aspergillus* (39%), *Rhizomucor* (18%), *Lichtheimia* (13%), *Rhizopus* (11%) и *Mucor* (5%). Другие виды вызывали менее 5% случаев инвазивных микозов, среди которых были выявлены такие нетипичные, как *Schizophyllum commune*, *Oxyporus corticola*, *Gymnascella hyalinospora*. Данные виды встречаются в природе: *Schizophyllum commune* произрастает преимущественно с осени до весны на мертвой древесине в хвойных и лиственных лесах, *Oxyporus corticola* растет на мертвой древесине лиственных пород, часто на осине и вызывает светлую трухляво-волоконистую гниль. Описаны случаи заражения собак данными видами. *Gymnascella hyalinospora* принадлежит к группе грибов, которые обитают в почве, на растительных субстратах, на экскрементах животных. Для этого вида описаны случаи заражения иммунокомпрометированных пациентов с миелобластным лейкозом и после пересадки сердца. *Purpureocillium lilacinum* – почвенный гриб, редко вызывающий ИМ.

Заключение. Внедрение новых молекулярных видов исследований, таких как ПЦР и секвенирование, играет значимую роль как в возможности проведения диагностики конкретному пациенту, так и формировании знаний по актуальной эпидемиологии ИМ и планировании стратегии противогрибковой терапии.

Опыт выявления мутаций резистентности цитомегаловируса к ганцикловиру

О.С. Кожушная, Г.Г. Солопова

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

Цель. Диагностика мутаций резистентности к ганцикловиру (ГЦВ) у иммунокомпрометированных детей с доказанной цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекцией.

Материалы и методы. В проспективно-ретроспективное исследование были включены пациенты с доказанной ЦМВ инфекцией. Выделение нуклеиновых кислот ЦМВ проводили с помощью набора Магно-Сорб (ЦНИИ эпидемиологии) из следующего клинического материала: венозная кровь, бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ), глазная жидкость. Вирусную нагрузку ЦМВ определяли с использованием набора реагентов «АмплиСенс EBV/CMV/HHV6-скрин-FL» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора», Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Наличие мутаций в гене *UL97* ЦМВ, приводящих к резистентности к действию ГЦВ, определяли с помощью секвенирования по Сенгеру. После получения результатов секвенирования проводили сравнение нуклеотидных последовательностей ЦМВ с референсной последовательностью штамма Merlin на платформе MRA Ульмского университета (Германия) и выдавали результат в виде файла с выявленной мутацией в белковой цепи pUL97.

Результаты и обсуждение. За период 2020–2024 гг. у 119 пациентов была проведена молекулярная диагностика мутаций резистентности ЦМВ к ГЦВ. Значимые мутации резистентности были выявлены у 26 пациентов: A594V (9), L595S (6), H520Q (3), A591V (1), C592G (1), C592S (1), C607F

(1), C607Y (1), C603W (1), L595F (1), L595S+M460V (1). Обнаружение данных вариантов мутаций свидетельствует о снижении/отсутствии чувствительности ЦМВ к ГЦВ и требует модификации противовирусной терапии – назначения высоких доз ГЦВ либо замены его на другой препарат, в том числе сидофовир или фоскавир. По результатам нашего исследования, развитие резистентности ЦМВ преимущественно регистрируется через 1–3 мес от начала терапии ГНЦ, в единичных случаях – раньше. В соответствии с результатами NGS исследований, есть предположение о существовании у одного пациента ЦМВ с генетическим разнообразием и преобладании резистентного штамма вследствие активации «подходящего» генотипа, а не вновь возникшей мутации ЦМВ.

Заключение. ЦМВ-инфекция является значимым инфекционным осложнением у иммунокомпрометированных детей, в первую очередь после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Препаратами профилактики и терапии первой линии ЦМВ является ГЦВ и его пролекарство – валганцикловир. Однако в результате длительного лечения ЦМВ-инфекции может сформироваться резистентность вируса к действию данных препаратов. Проведение исследований по диагностике мутаций резистентности к ГЦВ является актуальным, позволяет своевременно выявить мутации, ассоциированные с резистентностью ЦМВ, и назначить пациентам альтернативную противовирусную терапию.

Статистический анализ катетер-ассоциированных инфекций кровотока у иммунокомпрометированных пациентов за 5 лет

А.В. Кондрашова, А.Д. Воропаев, Ж.В. Маркова, А.В. Сацук, Г.Г. Солопова

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

Введение. Инфекции кровотока (ИК) являются значимой причиной заболеваемости и смертности пациентов онкологического и онкогематологического профилей. Катетер-ассоциированные инфекции кровотока (КАИК) относятся к группе инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и при внедрении грамотных профилактических мер в подавляющем большинстве случаев могут быть предотвращены. Данные по аналитическому учету КАИК у иммунокомпрометированных пациентов в России не представлены.

Цель. Определить частоту выявления КАИК и плотность инцидентности (ПИ) у иммунокомпрометированных пациентов.

Материалы и методы. Проспективное исследование было выполнено за период с 01.2019 по 12.2023 в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Центр). В исследование включено 664 пациента (1893 образцов крови) с идентификацией положительной гемокультуры. В соответствии с международной классификацией выделяют следующие виды подтвержденной ИК: вторичная - при диссеминации из первичного очага инфекции; КАИК - при нарушении техники использования центрального венозного катетера (ЦВК); транслокация - при попадании эндогенной флоры в кровяной ток в связи с нарушением слизистых барьеров у пациентов с агра-

нулоцитозом или у реципиентов стволовых клеток при развитии кишечной формы реакции «трансплантат против хозяина» III–IV степени или тяжелой диареи вне зависимости от уровня гранулоцитов в крови. Необходимо помнить о возможности развития ложной бактериемии вследствие нарушения техники асептики и контаминации флакона для гемокультивирования комменсалами кожных покровов, преимущественно - коагулазо-негативными стафилококками.

Результаты и обсуждение. В ходе 5-летнего наблюдения за ИК на фоне введения алгоритмов работы с ЦВК отмечалось снижение всех показателей: количество эпизодов ИК в год снизилось с 257 до 159, число уникальных пациентов - с 195 до 128, а ПИ - с 0,91 до 0,2 эпизодов на 1000 катетер-дней ($p < 0,05$) (рисунок). При этом по данным международных публикаций уровень ПИ варьирует от 0,5 до 5.

Превалирующими микроорганизмами остаются грамположительные кокки (*Staphylococcus* spp. *Enterococcus faecium*), и грамотрицательные микроорганизмы (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* и *Enterobacter* spp.).

Заключение. По результатам исследования отмечается существенное снижение ПИ, что демонстрирует важность соблюдения правил асептики и антисептики при работе с ЦВК.

Рисунок

Динамика снижения абсолютного числа эпизодов и ПИ (число эпизодов: 1000 катетер-дней) КАИК



Роль генетического типирования микроорганизмов при проведении эпидемиологического расследования

О.П. Лебедеенко, О.С. Кожушная, Ж.В. Маркова, Д.А. Воропаев, Ю.Л. Щемелинская, Г.Г. Солопова

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

Цель. Определить роль генетического типирования микроорганизмов при проведении эпидемиологического расследования.

Материалы и методы. Исследование было проведено на культурах *Staphylococcus aureus*, полученных из крови пациентов, центрального венозного катетера (ЦВК) и мазка из верхних дыхательных путей медицинского персонала. Показания для гемокультивирования были определены в соответствии с утвержденным в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России протоколом по «Фебрильной нейтропении», инкубацию проводили с использованием аэробных флаконов для гемокультур (ВАСТЕС, США). ДНК *Staph.aureus* выделяли с помощью набора реагентов МАГНО-сорб (Амплисенс, Россия). В реакции ПЦР брали по 50нг ДНК, по 10рmol соответствующего RAPD-праймера (RAPD1 acggccgacc, RAPD3 gcccgagcgg, RAPD6 ccgggcaagc, RAPD9 gaggtggcggttct), 1x смеси ScreenMix-HS (Евроген, Россия) и dH2O до объема реакции 25 мкл. Температурный режим амплификации ДНК: 95 – 3мин, 35 циклов: 95° – 15 с, 45°– 4 с, 72°– 60 с, 72° – 5 мин. Электрофорез ПЦР-продуктов проводили в 1% агарозном геле при режиме 130 V. Визуализацию полос осуществляли с помощью трансиллюминатора (Россия).

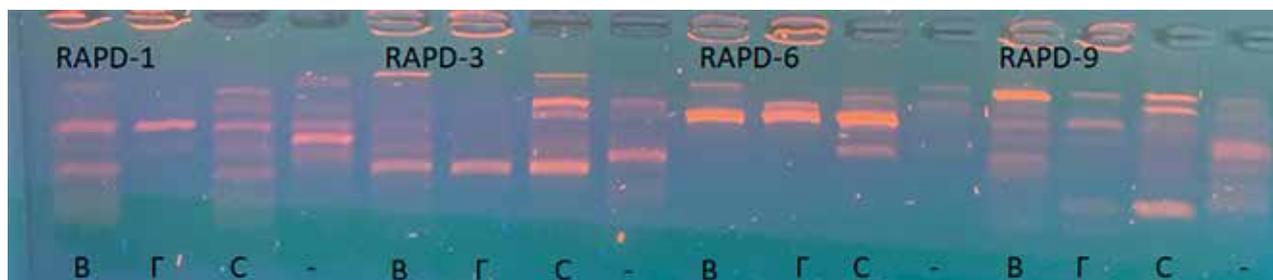
Результаты и обсуждение. В данном исследовании продемонстрированы результаты эпидемиологического расследования, проведенного в связи

с идентификацией из крови двух пациентов *Staph. aureus*. При проведении расследования у пациентов был выявлен потенциальный путь инфицирования – постановка ЦВК, другие общие факторы передачи возбудителя отсутствовали. Постановка ЦВК обоим пациентам выполнялась одним врачом-анестезиологом, при обследовании которого в микробиологическом мазке из носовых ходов был идентифицирован *Staph.aureus*. В связи с подозрением на развитие внутрибольничного инфицирования было проведено секвенирование штаммов для установления их генетического родства. При анализе электрофореграммы продуктов амплификации с праймерами RAPD-1, RAPD-3, RAPD-6 и RAPD-9 было выявлено, что генетические паттерны штаммов *Staph. aureus* как у пациентов, так и у врача отличаются друг от друга (рисунки). Таким образом, в результате исследования было подтверждено отсутствие связи эпизодов бактериемии у двух пациентов с колонизацией *Staph. aureus* врача анестезиолога.

Заключение. Микробиологическая идентификация микроорганизмов, даже в случае их идентичной чувствительности к антибиотикам, не является критерием достоверности при проведении эпидемиологического расследования. Применение методов генетического типирования позволяет с достоверной точностью подтвердить либо опровергнуть родство микроорганизмов, выявить источник, а также пути инфицирования и факторы передачи возбудителя.

Рисунок

Паттерны амплификации *Staph. aureus* обозначены: В – пациент 1, Г – врач, С – пациент 2



Лабораторная диагностика инвазивного микоза, вызванного редким возбудителем *Gymnascella hyalinospora*. Случай из практики

Ж.В. Маркова, А.Д. Воропаев, О.С. Кожушная, Г.Г. Солопова

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

Введение. Лабораторная диагностика инвазивных микозов у иммунокомпрометированных детей по-прежнему является сложной задачей, в том числе в связи с изменением эпидемиологии и появлением большего количества редких возбудителей. Характеристики таких мицелиальных грибов, как *Aspergillus*, *Mucorales*, *Fusarium*, на сегодняшний день хорошо изучены и в большинстве случаев их диагностика успешна. Однако редко (менее чем в 5% случаев) в реальной клинической практике возникает необходимость диагностики редких грибов.

Цель. Идентифицировать дифференциально-диагностические признаки редкого возбудителя для возможности быстрой диагностики в дальнейшем.

Материалы и методы. При исследовании биоптата легкого проводили флуоресцентную микроскопию с окраской калькофлюором белым (КФБ) на микроскопе Leica DM6 B с программным обеспечением LEICA LAS X. Рост колоний грибов был получен в результате культивирования на питательных средах Сабуро и Чапека-Докса при 37°C. Идентификация выделенной культуры проведена методом время-пролетной масс-спектрометрии (MALDI TOF MS), подтверждение видовой идентификации – ПЦР и секвенирование фрагментов ITS по Сэнгеру на генетическом анализаторе AB 3500.

Результаты и обсуждение. При микроскопии биоптата легкого с КФБ выявлен септированный мицелий шириной 5 мкм с шаровидными расширениями на одном конце клетки и ветвлением под разными углами (рисунки 1). Микроскопические характеристики выявленного мицелия (ширина, вид

Рисунок 1

Септированный мицелий при микроскопии биоптата легкого с КФБ

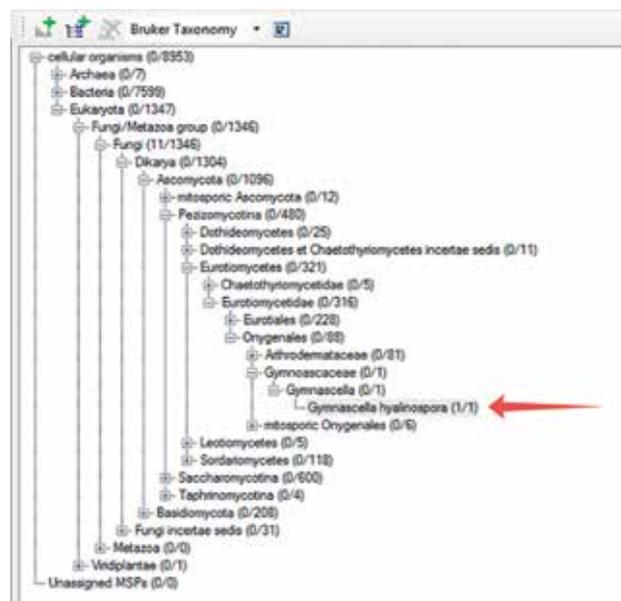


мицелия, наличие септирования, угол ветвления) не соответствовали основным возбудителям инвазивных микозов. Через 4 сут на питательной среде появился рост плоских и гладких колоний грибов, в последующем сформировавших мицелий желтоватого цвета и оранжево-коричневую окраску реверзума. Идентификация культуры на масс-спектрометре была невозможна в связи с отсутствием масс-спектров в базе данных Bruker “Fungi Library”. С целью идентификации было проведено секвенирование фрагментов рибосомных генов грибов в биоптате легкого и чистой культуре, в результате которого было установлено, что полученные нуклеотидные последовательности на 99% принадлежат виду *Gymnascella hyalinospora*. Наличие чистой культуры и результатов секвенирования ITS позволило добавить *Gymnascella hyalinospora* в библиотеку масс-спектров (рисунки 2).

Заключение. Данный клинический случай демонстрирует развитие инвазивного микоза, вызванного редким возбудителем – *Gymnascella hyalinospora*. Комплексный подход в диагностике инвазивных микозов безусловно остается актуальным и необходимым. На всех этапах микологических исследований могут быть получены данные, указывающие на редких возбудителей, что может радикальным образом влиять на подходы в лечении пациентов.

Рисунок 2

Занесение выявленных масс-спектров *Gymnascella hyalinospora* в библиотеку масс-спектрометра



Апластический криз, ассоциированный с парвовирусной инфекцией у ребенка с α -талассемией: клинический случай

М.О. Паршина, Н.Н. Коцкая, Н.С. Сметанина, А.В. Пшонкин

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

Цель. Представление клинического случая развития апластического криза, ассоциированного с парвовирусной инфекцией В19, у пациентки с α -талассемией.

Материалы и методы. В октябре 2018 г. девочке в возрасте 2,5 месяцев на основании клинико-лабораторных данных (гемоглобин 72 г/л, эритроциты $2,78 \times 10^{12}$ /л, ретикулоциты 8,3%, гипербилирубинемия, умеренная субиктеричность склер) был впервые установлен диагноз несфероцитарной гемолитической анемии. В терапии проводились трансфузии эритроцитарной массы (за 5,5 лет суммарно 14 гемотрансфузий). В июне 2024 г. после перенесенной острой респираторной вирусной инфекции констатировано снижение гемоглобина и эритроцитов (гемоглобин 62 г/л, эритроциты $2,2 \times 10^{12}$ /л); клинико-лабораторных данных, свидетельствующих в пользу гемолитического процесса – спленомегалии, ретикулоцитоза и повышения непрямого фракции билирубина, выявлено не было. Для уточнения диагноза и определения дальнейшей тактики ведения ребенок был госпитализирован в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Результаты и обсуждение. В ходе диагностического поиска исключены пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ-клон не выявлен), аутоиммунная гемолитическая анемия (антиэритроцитарные антитела не выявлены, прямая проба Кумбса отрицательная), апластическая анемия (по данным миелограммы – костный мозг нормоклеточный, по данным МРТ костной ткани – среднее содержание жира не повышено, по данным гистологического исследования трепанобиоптата – картина реактивных изменений гемопоэза), лимфопролиферативные заболевания (отсутствие лимфаденопатии, гепато-

спленомегалии, бластоза в периферической крови и костном мозге). При исследовании костного мозга методом ПЦР выявлен Parvovirus B19 в количестве 20 222 копий/мл. По данным эритроцитарной формулы эллиптоидные эритроциты составили 14,4%. Определялись признаки внесосудистого гемолиза (повышенное количество ретикулоцитов, повышенная концентрация лактатдегидрогеназы, непрямого билирубина).

По данным молекулярно-генетического обследования (MLPA) обнаружена протяженная делеция -a3.7 в гетерозиготном состоянии локуса α -глобиновых генов. Фракции гемоглобинов по данным электрофореза гемоглобинов в норме, аномальных гемоглобинов не выявлено, осмотическая резистентность эритроцитов не повышена, что соответствует гетерозиготной форме α -талассемии. Таким образом, у пациентки верифицирован диагноз « α -талассемия, гетерозиготная форма (del-a3.7). Апластический криз, ассоциированный с парвовирусной инфекцией В19».

В терапии проводилась инфузия высокодозного внутривенного иммуноглобулина в курсовой дозе 2 г/кг в течение 4 дней.

Заключение. Данный клинический случай наглядно иллюстрирует особенности первичного инфицирования парвовирусом В19 у пациентки с α -талассемией. У больной наблюдалось длительное течение хронического внутриклеточного гемолиза с минимальными клиническими проявлениями, однако инфицирование парвовирусом В19 на фоне гемолитической анемии с укорочением продолжительности жизни эритроцитов привело к развитию апластического криза.

Случай выявления инвазивного микоза, обусловленного *Trichosporon asahii*

О.Н. Пинегина, О.С. Кожушная, Ж.В. Маркова, А.Д. Воропаев, Н.В. Суворова, А.В. Верещагина, Г.А. Новичкова, Г.Г. Солопова

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

Цель. Представить описание лабораторной диагностики инвазивного микоза, вызванного *T. asahii* у пациента с диагнозом острый лимфобластный лейкоз.

Материалы и методы. Для установления этиологии возбудителя инфекционного заболевания у пациента с факторами риска инвазивного микоза в микробиологическую лабораторию были направлены следующие биологические субстраты: жидкость бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), содержимое абсцесса щитовидной железы, образцы кала и ректальные мазки. Микроскопию БАЛ и содержимого абсцесса проводили с использованием красителя калькофлюора белого (КФБ) на микроскопе LeicaDM6 B с программным обеспечением LEICA LAS X. Культивирование всех биологических образцов осуществляли на питательном агаре Сабуро с добавлением хлорамфеникола при 37°C. Идентификацию выделенной культуры проводили с помощью время-пролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF) при прямом нанесении клеток на мишень с использованием HCCA матрицы и анализом с помощью программного обеспечения MALDI Biotyper. Определение чувствительности к антимикотикам осуществляли с помощью E-тестов (*Liofilchem*). Молекулярно-генетическую идентификацию проводили согласно рекомендациям Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI, 2008) из образцов БАЛ и содержимого абсцесса щитовидной железы. Идентификация основывалась на определении нуклеотидных последовательностей ITS фрагментов и рибосомных генов по методу Сенгера на генетическом анализаторе AB 3500. Полученные путем секвенирования последовательности сравнивались с базой данных GenBank при помощи алгоритма BLAST.

Рисунок

Тканевая форма *T. asahii* из образца содержимого абсцесса щитовидной железы при окрашивании КФБ, ×400



довательностей ITS фрагментов и рибосомных генов по методу Сенгера на генетическом анализаторе AB 3500. Полученные путем секвенирования последовательности сравнивались с базой данных GenBank при помощи алгоритма BLAST.

Результаты. В образце содержимого абсцесса щитовидной железы при микроскопии с КФБ были обнаружены дрожжевые почкующиеся клетки, артро-споровый мицелий, артроспоры (*рисунок*). В БАЛ и содержимом абсцесса молекулярно-генетическим методом был выявлен *Trichosporon asahii*. На чашках был получен рост культуры гриба *Trichosporon asahii*. При определении чувствительности гриба к антимикотикам были получены следующие значения минимальных ингибирующих концентраций: 0,5 мкг/мл (амфотерицин В), 0,032 мкг/мл (вориконазол).

Обсуждение *Trichosporon* spp. – базидиомицетовые дрожжи, являющиеся частью микробиоты кожи, могут быть выделены в почве и воде. У иммунокомпromетированных пациентов, несмотря на проводимую противогрибковую терапию, могут вызывать диссеминированные жизнеугрожающие инфекции. В последние годы таксономия данного рода была значительно пересмотрена: *T. cutaneum*, *T. dermatis*, *T. jirovecii* и *T. mucoides* перенесены в новый род *Cutaneotrichosporon*, тогда как *T. domesticum*, *T. loubieri* и *T. mycotoxinovorans* теперь включены в переопределенный род *Apiotrichum*. Виды *T. asahii*, *T. asteroides*, *T. inkin* и *T. ovoides* являются наиболее распространенными клиническими изолятами, при этом на долю *T. asahii* приходится 75% случаев. Грибы *T. asahii* обычно хорошо растут на питательных средах и формируют матовые приподнятые колонии на 2-3 сутки инкубации. Однако на фоне лечения антимикотиками получить рост возбудителя в культуре удается не всегда. Известно, что все виды рода *Trichosporon* spp. являются устойчивыми к эхинокандинам. Поэтому важным аспектом микробиологической диагностики является микроскопия биоматериала с использованием КФБ, а также включение молекулярно-биологических методов в диагностический поиск.

Заключение. Для диагностики редких возбудителей инвазивных микозов необходимо использовать комплексную лабораторную диагностику, включающую традиционные микробиологические методы (микроскопия, посев), а также молекулярно-генетические методы идентификации.

Туберкулез у детей и подростков с онкологическими заболеваниями: особенности течения, лабораторной и инструментальной диагностики

В.А. Романенко¹, Н.И. Клевно¹, Е.А. Сокольская¹, А.В. Казаков¹, Н.В. Суворова²

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Минздрава России, Москва

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

Цель. Изучить клинические особенности течения туберкулеза, информативность иммунодиагностических тестов и рентгенологических методов обследования у детей с онкологическими заболеваниями.

Материалы и методы. За период 2018–2024 гг. проанализирована медицинская документация 52 детей в возрасте 1–17 лет с туберкулезом и онкологическими заболеваниями. Проведена оценка клинических, рентгенологических, иммунодиагностических данных. Для иммунодиагностики использовались внутрикожные тесты (проба с аллергеном туберкулезным рекомбинантным-АТР) и IGRА-тесты (T-SPOT.TB и QuantiFERON).

Результаты и обсуждение. Из 52 детей у 32 (62%) диагностированы гемобластозы, у 20 (38%) – злокачественные новообразования паренхиматозных органов. По данным компьютерной томографии органов грудной клетки, локальные ограниченные формы туберкулеза органов дыхания диагностированы у 15% детей. У 85% детей зарегистрированы двусторонние туберкулезные процессы с бронхолегочными и внелегочными осложнениями,

в 44% – с поражением печени, почек и селезенки, в 6% – с развитием менингоэнцефалита. При проведении туберкулиновой диагностики у подавляющего большинства пациентов (79%) проба с АТР и IGRА-тесты были положительными, тогда как у 11 (21%) пациентов с лимфомой Ходжкина, неходжкинской лимфомой, острым лимфобластным лейкозом и остеосаркомой – отрицательными.

Заключение. Дети и подростки с онкологическими заболеваниями подвержены высокому риску развития туберкулеза. Течение туберкулеза у данной категории пациентов характеризуется склонностью к генерализации процесса и развитию осложнений. Для предотвращения развития туберкулеза у детей с онкологической патологией должен проводиться систематический скрининг, в том числе до проведения иммуносупрессивной/химиотерапии, трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и солидных органов. Детям с признаками туберкулезного инфицирования необходимо назначать превентивное лечение для предупреждения развития локальных форм туберкулеза.

Диссеминированный фузариоз у пациента с острым лимфобластным лейкозом

Г.Г. Солопова¹, М.Е. Прокофьев¹, Н.В. Суворова¹, А.О. Верещагина¹, Е.А. Друй¹, Е.А. Раймулла², Г.У. Рахимова¹, Ж.В. Маркова¹, Г.А. Новичкова¹

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

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

Цель. Описание клинического случая пациента со злокачественным гематологическим заболеванием и диссеминированной формой редкого инвазивного микоза.

Материалы и методы. Пациент 16 лет с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), VII-иммуновариант с ко-экспрессией CD15 начал получать терапию по протоколу ALL-MB 2015. Из особенностей эпидемиологического анамнеза обращало внимание курение с 13 лет, работа на лесозаготовительном предприятии и, как следствие, выраженный травматизм кожных покровов.

Результаты. На 15-й день терапии индукции на фоне стойкой фебрильной нейтропении у пациента на левом предплечье появился папулезный элемент с некротизирующим изъязвлением в центре и дальнейшей диссеминацией в кожу и мягкие ткани верхних и нижних конечностей, головы, туловища (рисунки 1, 2). По месту жительства был установлен диагноз ветряной оспы, который впоследствии не подтвердился. В связи с сохранением стойкого фебрилитета на фоне антибактериальной терапии широкого спектра действия инициировали эмпирическую противогрибковую терапию липидной формой амфотерицина В. Через 6 дней от начала инфекционного эпизода была идентифицирована положительная гемокультура с верификацией плесневых грибов – *Fusarium solani*. Таким образом инфекционный диагноз был сформулирован как доказанный инвазивный фузариоз с диссеминацией в кожу и мягкие ткани, мышцы, придаточные пазухи носа, кости таза, левый коленный и голеностопный суставы. С учетом возможной природной резистентности *Fusarium solani* была назначена комбинированная противогрибковая терапия: липосомальная форма амфотерицина В в дозе 5 мг/кг/сут и внутривенная форма вориконазола под контролем терапевтической концентрации. Стабилизация клинических проявлений фузариоза была достигнута через месяц от начала противогрибковой терапии. После регресса очагов диссеминации специфическая терапия была продолжена биспецифическим активатором Т-клеток – блинатумомабом с дальнейшим назначением поддерживающей химиоте-

рапии. Продолжительность комбинированной противогрибковой терапии составила 3 мес, монотерапии вориконазолом – 3 мес.

Обсуждение. Фузариоз относится к редким видам инвазивных микозов, с преимущественной распространенностью в Южной Америке и Юго-Восточной Азии. Наиболее часто фузариоз у людей вызывают *F. solani* (50 %) и *F. Oxysporum* (20 %), реже *F. Verticillioïdis*, *F. moniliforme* и др. Грибы рода *Fusarium* могут вызывать поверхностные микозы – преимущественно у иммунокомпетентных пациентов, и инвазивные формы с диссеминацией и поражением различных органов и тканей – у иммунокомпрометированных пациентов. Прогноз пациентов со злокачественными гематологическими заболеваниями при развитии инвазивного фузариоза зависит от достижения ремиссии основного заболевания и выраженности процесса диссеминации.

Закключение. Данный клинический случай является демонстрацией успешного лечения редкого системного микоза у пациента с ОЛЛ. Залогом излечения пациента были такие факторы, как: ранняя диагностика и назначение целенаправленной противогрибковой терапии, проведение терапии блинатумомабом и достижение ремиссии по основному заболеванию.

Рисунок 1
Папулезный элемент с некротизирующим изъязвлением на левом предплечье



Рисунок 2
Диссеминированная сыпь на левой голени



Фузариоз у онкогематологических пациентов детского возраста: результаты одноцентрового исследования

Г.Г. Солопова, М.Е. Прокофьев, Н.В. Суворова, А.О. Верещагина, Ж.В. Маркова, Г.У. Рахимова, Г.А. Новичкова

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

Цель. Провести анализ возможности диагностики, клинических особенностей и эффективности терапии редкого вида инвазивных микозов (ИМ) – фузариоза у иммунокомпрометированных детей в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Центр).

Материалы и методы. В ретроспективное исследование включено 9 пациентов (4 ж:5 м) с медианой возраста 10,8 года (5–17 лет) с подтвержденным фузариозом в период 01.2013–12.2023. Фузариоз был диагностирован у пациентов с острыми лейкозами ($n = 7$), первичным иммунодефицитом ($n = 1$), тяжелой апластической анемией ($n = 1$) на различных этапах проведения химиотерапии (ХТ, $n = 5$) и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК, $n = 4$). Диагноз фузариоз устанавливали на основании клинико-инструментальных и микробиологических результатов исследований в соответствии с критериями EORTC.

Результаты. При фузариозе развитие диссеминации отмечалось у 67% пациентов ($n = 6$) с вовлечением кожи и мягких тканей (100%), легких (67%), придаточных пазух носа (ППН, 50%), печени, селезенки, мышц и глаз (по 16,7%). Реже наблюдались локализованные формы с поражением ППН ($n = 2$) и легкого ($n = 1$). У всех пациентов была проведена микробиологическая идентификация: *Fusarium solani* ($n = 4$), *Fusarium proliferatum* ($n = 3$), *Fusarium oxysporum* ($n = 1$) и 1 случай инфекции *Fusarium petrophilum* + *Fusarium solani*. Реже подтверждение диагноза было возможно при проведении других методов исследования: гистологического (89%), иммунофлюоресцентной микроскопии (55%), гемокультивирования (30%). Из всех пациентов у 1 отмечался сочетанный вероятный аспергиллез легких и у 1 – доказанный мукормикоз легких. Устойчивость

к вориконазолу (МИК ≥ 32) была выявлена у 3 из 4 пациентов, к амфотерицину – у 1 из 4. Все пациенты получили следующие виды целенаправленной терапии: липидную/липосомальную форму амфотерицина В в комбинации с вориконазолом ($n = 6$), в комбинации с изавуконазолом ($n = 2$) и – с позаконазолом ($n = 1$). Трем пациентам был проведен оперативный этап лечения, 3 – удаление центральных венозных катетеров, 5 – трансфузии донорской гранулоцитарной взвеси и 6 – стимуляция гранулоцитопоэза. После проведенной терапии излечение фузариоза отмечалось у 6 пациентов, из которых 5 остались живы (56%). Четыре пациента (44%) умерли от развития полиорганной недостаточности на сроках 6, 27, 54 и 253 дня от диагностики фузариоза.

Обсуждение. Несмотря на то, что фузариоз является редким ИМ, необходимо помнить о характерных клинических проявлениях – диссеминированном поражении кожи на фоне фебрилитета с возможным вовлечением других органов и тканей, в первую очередь у пациентов с такими факторами риска как ХТ и ТГСК. Препаратами выбора являются липидная или липосомальная формы амфотерицина В, вориконазол, изавуконазол. Однако, ввиду возможной природной резистентности, до получения результатов чувствительности оправдано назначение комбинированной терапии. При развитии катетер-ассоциированной инфекции показано удаление центрального венозного катетера. *Fusarium solani* у пациентов Центра явился наиболее распространенным видом. В связи с крайне неблагоприятным прогнозом при развитии фузариоза у иммунокомпрометированных больных необходимо своевременное выполнение визуализации, инвазивной диагностики и проведение микробиологических и микологических исследований.

Трансплантация фекальной микробиоты иммунокомпрометированным пациентам

Н.В. Суворова, О.С. Кожушная, А.В. Воропаев, Ж.В. Маркова, А.А. Масчан, М.А. Масчан, Г.А. Новичкова, Г.Г. Солопова

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

Цель. Оценить безопасность и эффективность трансплантации фекальной микробиоты (ТФМ) у иммунокомпрометированных пациентов. Основной задачей ТФМ являлась попытка проведения деконволюции пациентов от антибиотикорезистентных микроорганизмов и, как следствие, снижение риска развития тяжелых инфекционных эпизодов. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, родители/пациенты старше 15 лет подписывали информированное согласие.

Материалы и методы. В проспективное исследование за период с октября 2023 г. по август 2024 г. был включен 21 пациент (м-13, ж-8) с медианой возраста 10,2 года (1,5–18 лет). Критерием включения всех пациентов в исследование являлась колонизация 1–2 штаммами мультирезистентных бактерий, а также тяжелая рецидивирующая инфекция, ассоциированная с *Clostridium difficile*, у двух пациентов. Основными диагнозами являлись: острый лимфобластный лейкоз ($n = 13$), солидные опухоли ($n = 3$), острый миелобластный лейкоз ($n = 2$), первичный иммунодефицит ($n = 2$), опухоль ЦНС ($n = 1$). Все пациенты были на разных сроках от проведения химиотерапии ($n = 15$) либо аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК, $n = 6$). ТФМ состояла из введения взвеси фекалий здорового донора-добровольца в кишечный тракт реципиента: эндоскопически в тощую кишку ($n = 3$) и перорально в форме капсул ($n = 18$) из расчета 1 капсула/год жизни. Суммарно было выполнено 22 ТФМ (1 пациенту – дважды).

Всем пациентам проводилось микробиологическое исследование кала и определение генов резистентности (VIM, NDM, OXA-48, MBL, KPC) за 7 дней до ТФМ, через 7, 14, 30 дней и 6 месяцев после ТФМ. Обследование доноров и изготовление донорской микробиоты происходило в ФГБУ «ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина» ФМБА России.

Результаты и обсуждение. У 14 (67%) пациентов удалось достичь элиминации мультирезистентной флоры, при этом у 30% спектр чувствительности к антибактериальным препаратам расширился до природного (таблица). У двух пациентов с рецидивирующим клостридиальным энтероколитом (более 3 эпизодов) признаков инфекции после ТФМ не отмечалось. У 6 из 7 пациентов с диарейным синдромом был достигнут полный клинический ответ, у 1 –

транзиторный (пациент после алло-ТГСК). Одному пациенту в связи с отсутствием эффекта ТФМ выполнялась дважды. Значимых побочных эффектов (бактеремии, аспирации или других жизнеугрожающих осложнений) зарегистрировано не было, у 1 пациента отмечался эпизод рвоты после эндоскопического введения, у 1 – прогрессия диарейного синдрома.

Заключение. На данном этапе исследования была продемонстрирована безопасность и возможность проведения ТФМ иммунокомпрометированным детям. Проведение ТФМ пациентам, колонизированным мультирезистентными штаммами с предстоящим длительным периодом агранулоцитоза на фоне высокодозной химиотерапии и иммуносупрессивной терапии может привести к элиминации патогенной флоры. Для более детальной оценки сроков необходимой отмены антибактериальной терапии, элиминации резистентных микроорганизмов, особенностей течения клинических проявлений, в том числе реакции «трансплантат против хозяина» требуется продолжение исследования.

Таблица
Динамика клинико-лабораторных показателей на разных сроках ТФМ

	0 до ТФМ	1 +7-е сутки	2 14-е сутки	3 +30-е сутки	4 +6 мес	Клиническая эффективность	Осложнения
1	+	+	+	+	+	Да	Нет
2	+	+	+	-	-	Да	Нет
3	+	+	+	-	-	Да	Нет
4	+	-	-	-	09.24	Да	Нет
5	+	+	-	-	09.24	Да	Нет
6	+	-	-	-	-	Да	Нет
7	+	+	-	-	-	Да	Нет
8	+	+	+	-	-	Да	Нет
9	+	-	-	-	-	Да	Нет
10	+	+	-	-	09.24	Да	Нет
11	+	+	+	+	LFU	Да	Рвота
12	+	+	+	+	+	Да	Диарея
13	+	+	+	+	09.24	Да	Нет
14	+	+	+	+	+	Да	Нет
15	+	+	+	+	+	Да	Нет
16	+	-	-	-	11.24	Да	Нет
17	+	-	-	-	11.24	Да	Нет
18	+	-	-	-/+	01.25	Да	Нет
19	+	-	-	-	01.25	Да	Нет
20	+	-	-	-	01.25	Да	Нет
21	+	-	-	-	01.25	Да	Нет
22	+	+	+	+	+	Да	Нет

Примечание. Красный цвет – устойчивость к карбапенемам; желтый цвет – устойчивость к цефалоспорином 3–4-го поколения; зеленый цвет – чувствительность ко всем классам антибиотиков.

Клинический случай легионеллезной пневмонии у пациента с острым лимфобластным лейкозом

Н.В. Суворова¹, М.С. Юдакова², А.В. Астанина³, Е.В. Розанцева¹, Г.Г. Солопова¹

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

²ГБУ «Областная детская клиническая больница им. Н.В. Дмитриевой» Минздрава России, Рязань

³ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

Введение. Одним из наиболее частых видов осложнений у пациентов, получающих иммуносупрессивную и химиотерапию, являются пневмонии. Этиология инфекционного поражения легких может быть очень разнообразна – от вирусов и грибов до бактерий, в том числе редких условно-патогенных, таких как *Legionella* spp. По данным Всемирной организации здравоохранения распространенность болезни легионеров в мире составляет 1,4–1,8 случая на 100 000 человек. Однако работ, посвященных легионеллезной инфекции в детской онкологии/гематологии недостаточно. Наиболее распространенный путь инфицирования – аэрозольный, источниками инфекции могут являться системы кондиционирования и увлажнения воздуха, а также системы горячего и холодного водоснабжения.

Цель. Демонстрация клинического случая легионеллезной пневмонии у пациента с острым лимфобластным лейкозом.

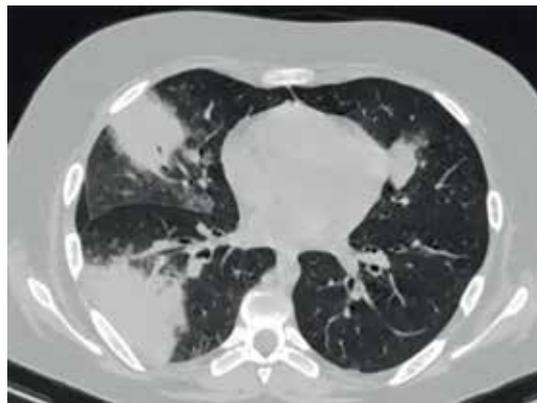
Клинический случай. Пациенту 14 лет с диагнозом ОЛЛ, В-II иммуновариант была начата терапия по протоколу МВ 2015. На 30-й день индукции ремиссии у пациента на фоне фебрильной нейтропении отмечалось развитие навязчивого сухого кашля. Несмотря на проведение массивной антибактериальной терапии, в течение 48 ч отмечалась отрицательная динамика – развитие дыхательной недостаточности: зависимость от кислорода (SaO_2 – 98% на потоке 3 л/мин), ЧДД – 44 в мин. Аускультативно – ослабление дыхания и появление крепитирующих хрипов в нижних отделах легких, а также рост СРБ до 205 г/л. На КТ органов грудной клетки выявлены множественные очаги инфильтрации с двух сторон (рисунки 1, 2). Пациенту была выполнена бронхоскопия и до получения результатов исследования бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) назначена упреждающая противогрибковая терапия: липидная форма амфотерицина В + вориконазол, а также сульфаметоксазол/триметоприм в лечебной дозе. В этот же день в БАЛ методом ПЦР выявлена *Legionella pneumophila* и назначена терапия левофлоксацином, который является препаратом первой линии. Однако в течение следующих суток отмечалась дальнейшая отрицательная динамика – прогрессия дыхательной недостаточности, потребовавшая перевода на ИВЛ и, несмотря на проводимую терапию, через 3 сут пациент умер.

Обсуждение и выводы. В клинической практике врачи-онкологи/гематологи часто встречаются с инфекционными осложнениями у пациентов, однако необходимо помнить о возможности развития заболеваний редкой этиологии. В связи с критической значимостью скорости проведения диагностики для прогноза и исхода заболевания, наиболее оптимальным методом идентификации *Legionella* spp. является определение ПЦР в БАЛ. В бактериологической лаборатории НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева были проанализированы все исследования *Legionella* spp. за период с 2015 по 2024 г. ($n = 774$) и установлено, что положительный результат был диагностирован впервые. Наиболее вероятно, причиной отрицательных результатов является проведение строгого контроля качества окружающей среды (систем очистки и подготовки воздуха, водоснабжения) в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Рисунок 1



Рисунок 2



Определение генетического родства микроорганизмов при проведении эпидемиологического расследования

Ю.Л. Щемелинская, О.С. Кожушная, Д.А. Воропаев, Ж.В. Маркова, О.П. Лебеденко, Г.Г. Солопова

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

Цель. Подтвердить возможность распространения микроорганизмов среди пациентов отделения при эпидемиологическом расследовании путем проведения генетического типирования.

Материалы и методы. Материалом для проведения исследования являлись образцы крови и трахеобронхиального аспирата (ТБА), при культивировании которых был получен рост культур *Kl. Pneumoniae*. Показания для проведения микробиологических исследований были определены в соответствии с утвержденным в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева протоколом по «Фебрильной нейтропении», инкубацию крови проводили в аэробных флаконах (ВАСТЕС, США), ТБА – на кровяном и шоколадном агаре (BD, США). Определение чувствительности к антибиотикам проводили на панелях и бактериологическом анализаторе Сенсититр (Trek Diagnostic Systems), для генетического типирования использовался набор реагентов МАГНО-сорб (Амплисенс, Россия), смесь ScreenMix-HS (Евроген, Россия), RAPD-праймеры (RAPD1 acggccgacc, RAPD3 gcccgagcgg, RAPD6 ccgggcaagc, RAPD9 gaggtggcggttct), dH₂O, камера для электрофореза, трансиллюминатор (Россия).

Результаты и обсуждение. У двух пациентов в положительных гемокультурах была идентифицирована *Kl.pneumoniae*, устойчивая к действию карбапенемов и полимиксинов (ген резистентности KPC). Через 3 сут из ТБА третьего пациента этого же отделения был получен рост идентичного микроорганизма. Данная микрофлора у пациентов была выделена впервые, что свидетельствовало о потенциальном распространении *Kl. Pneumoniae* внутри отделения.

С целью подтверждения возможной передачи *Kl. Pneumoniae* между пациентами, поиска источника и путей распространения инфекции было проведено эпидемиологическое расследование, в ходе которого был выявлен наиболее значимый в механизме передачи фактор риска – невыполнение либо несоблюдение техники гигиенической обработки рук. По результатам молекулярно-генетического типирования *Kl. Pneumoniae* методом RAPD-ПЦП была подтверждена генетическая идентичность штаммов, выявленных у трех пациентов одного отделения. Единого источника путей передачи инфекции выявлено не было – с пациентами работали разные врачи и медсестры, однако в течение рабочей смены сотрудники могли при необходимости кратковременно подменять друг друга. Была сформулирована гипотеза, что распространение микрофлоры и последующее инфицирование пациентов происходило через необработанные руки медперсонала. После проведения внеочередного обучения всем сотрудникам отделения с принятием зачета по обработке рук повторного распространения данной микрофлоры среди пациентов зарегистрировано не было.

Заключение. Применение молекулярных методов типирования микроорганизмов при проведении эпидемиологического расследования позволяет с достоверной точностью подтвердить их генетическое родство, реализацию внутрибольничной передачи между пациентами и, как следствие, предотвратить инфицирование других пациентов. Осознание персоналом рисков развития инфекционных осложнений является значимым мотивационным фактором в устранении нарушений.

Случай успешного лечения мукомикоза с поражением верхней челюсти, скуловой кости, клиновидной кости, решетчатой кости у ребенка с врожденным миелоидным лейкозом

О.С. Юдинцева, О.В. Паина, П.В. Кожокар, Ж.З. Рахманова, Л.А. Цветкова, М.О. Попова, И.Б. Баранова, Ю.А. Роднева, А.А. Спиридонова, Л.С. Зубаровская

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

Введение. У иммунокомпрометированных пациентов инвазивные микозы (ИМ) являются важным и грозным осложнением с высокими показателями летальности. В группу высокого риска развития ИМ входят онкогематологические больные с длительной нейтропенией.

Клинический случай. Пациент, 1 год, с диагнозом: младенческий острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) $t(4;19)(q25;q13.4)t(X;10)(q28;q22)$ с вовлечением центральной нервной системы поступил 24.01.2021 в НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой для продолжения лечения. Учитывая персистенцию минимальной остаточной болезни пациенту был проведен курс противорецидивной терапии по схеме Fla-IDA, курс осложнился двусторонней полисегментарной пневмонией, фебрильной нейтропенией. После курса высокодозной химиотерапии у пациента отмечалось появление периорбитального отека справа, по данным компьютерной томографии (КТ) признаки пристеночно-гиперпластических изменений слизистой оболочки верхнечелюстных и клиновидной пазух. В кратчайшие сроки пациенту была выполнена эндоскопическая гайморотомия. Изменения расценивались как течение гематогенного остеомиелита правой верхнечелюстной кости, скуловой кости на фоне генерализованного течения инфекционного процесса у пациента со вторичным иммунодефицитом на фоне врожденного ОМЛ, от рекомендованного оперативного лечения с целью санации очага инфекции родители отказались. Пациент продолжал получать комбинированную антибактериальную, антифунгальную терапию. На контрольной КТ выявлена отрицательная динамика. С целью верификации инфекционного процесса, учитывая отказ родителей от оперативного лечения, ребенку была выполнена биопсия кожи и подкожной клетчатки периорбитальной области. При микроскопии обнаружен мицелий мукомикозного гриба. Принимая во внимание отсутствие положительной динамики со стороны остеодеструктивного процесса на фоне течения

мукомикоза по результатам КТ костей черепа, несмотря на проводимую системную противогрибковую терапию, рекомендовано проведение хирургического вмешательства с целью санации очага инфекции (некрэктомия). Мать повторно отказалась от хирургического вмешательства. Ребенку проводилась комбинированная противогрибковая терапия (амфотерицин В + изавуконазол) на протяжении 8 месяцев. Учитывая невозможность проведения высокодозной химиотерапии, алло-ТГСК и высокий риск рецидива пациенту проводилась терапия гипометилирующими препаратами в течение 1 года 6 мес. На фоне комбинированной противогрибковой терапии по данным КТ инфекционный очаг сохранялся без динамики. С помощью индивидуально изготовленной навигационной системы 15.05.2023 челюстно-лицевыми хирургами была успешно выполнена некрэктомия, секвестрэктомия. В настоящее время пациент находится в полной ремиссии основного заболевания, без инфекционных осложнений.

Заключение. Данный клинический случай демонстрирует успешное лечение мукомикоза у пациента с врожденным миелоидным лейкозом. Мультидисциплинарный подход, своевременное назначение комбинированной противогрибковой терапии на фоне гипометилирующих агентов позволили достичь успеха как в лечении основного заболевания, так и мукомикоза.

Рисунок
Внешний вид пациента до начала лечения и через 1 год после проведенной терапии



Клинический случай успешного лечения резистентной цитомегаловирусной инфекции у ребенка с рецидивом В-ОЛЛ

О.С. Юдинцева, О.В. Паина, П.В. Кожокар, Ж.З. Рахманова, Л.А. Цветкова, М.О. Попова, А.А. Спиридонова, Л.С. Зубаровская

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

Введение. Цитомегаловирус (ЦМВ) является наиболее распространённой вирусной инфекцией после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) у детей и может регистрироваться у 30% реципиентов. Формирование генетических мутаций, обуславливающих устойчивость ЦМВ к противовирусной терапии, приводит к рефрактерному течению ЦМВ-инфекций и ухудшению результатов лечения пациентов, в том числе после алло-ТГСК. В данной публикации будет продемонстрирован случай успешного лечения резистентной ЦМВ-инфекции с использованием марибавира у пациента с рецидивом В-клеточного острого лимфобластного лейкоза (В-ОЛЛ).

Клинический случай. Пациенту 10 лет с поздним рецидивом В-ОЛЛ был проведен курс таргетной терапии биспецифическим активатором Т-клеток – блинатумомабом. На фоне развития фебрильной нейтропении отмечалась реактивация ранее диагностированного эрозивно-язвенного колита (ЯК). При молекулярно-биологическом исследовании крови и биоптата толстой кишки был выявлен ЦМВ и назначена терапия ганцикловиром. В динамике отмечалось развитие тяжелого гемоколита, нарастание титра ЦМВ в крови, отсутствие восстановления гемопоэза, развитие подчелюстного сialоденита на фоне стойкого фебрилитета (таблица). В связи с клинической рефрактерностью ЦМВ к терапии ганцикловиром пациенту был назначен марибавир, на фоне

которого достигнут клиренс ЦМВ в крови, разрешение сialоденита, положительная динамика со стороны клинических и эндоскопических признаков ЯК (при сохранении ЦМВ в биоптате кишки). Через 1 мес пациенту была проведена алло-ТГСК от гаплотипичного донора, реактивации ЦМВ на фоне терапии марибавиром не наблюдалось. Посттрансплантационный период характеризовался развитием генерализованной инфекции, обусловленной герпес-вирусом 6-го типа (HHV6), осложнившейся синдромом макрофагальной активации и первичным неприживлением трансплантата. С лечебной целью больной получал ганцикловир, на фоне которого отмечалось разрешение инфекции HHV6, подтвержденное молекулярно-биологическим исследованием костного мозга и крови. В раннем периоде после алло-ТГСК вновь отмечалось увеличение вирусной нагрузки ЦМВ в крови и наблюдалось обострение ЯК; быстрое достижение клиренса ЦМВ произошло после повторного назначения марибавира. Впоследствии пациенту была успешно проведена повторная алло-ТГСК.

Заключение. Возможность применения новых противовирусных препаратов, позволяющих преодолеть резистентность ЦМВ, и своевременное назначение целенаправленной противовирусной терапии позволяет достичь успехов в лечении иммунокомпromетированных пациентов на этапах как до, так и после проведения алло-ТГСК.

Таблица

Динамика вирусной нагрузки у пациента на фоне терапии марибавиром

Терапия	Ганцикловир				Марибавир	
Дата	02.05.24	04.05.24	05.05.24	11.05.24	20.05.24	30.05.24
Концентрация ЦМВ в крови, МЕ/мл	3150	7500	1158	2862	300	300

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