

ВОПРОСЫ ГЕМАТОЛОГИИ/ОНКОЛОГИИ И ИММУНОПАТОЛОГИИ В ПЕДИАТРИИ

Научно-практический журнал

№ 4 | том 16 | 2017



ВРАЧИ
ИННОВАЦИИ
НАУКА —
ДЕТЯМ

Главный редактор

Новичкова Галина Анатольевна
доктор медицинских наук, профессор

Заместители главного редактора

Масчан Алексей Александрович
доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН
Румянцев Александр Григорьевич
доктор медицинских наук, профессор, академик РАН

Ответственный секретарь

Сметанина Наталия Сергеевна
доктор медицинских наук, профессор

Члены редколлегии

Алейникова Ольга Витальевна
доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН
Балашов Дмитрий Николаевич
доктор медицинских наук, профессор
Белогурова Маргарита Борисовна
доктор медицинских наук, профессор
Варфоломеева Светлана Рафаэлевна
доктор медицинских наук, профессор
Володин Николай Николаевич
доктор медицинских наук, профессор, академик РАН
Демихов Валерий Григорьевич
доктор медицинских наук, профессор
Кит Олег Иванович
доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН
Кулагин Александр Дмитриевич
доктор медицинских наук, профессор
Масчан Михаил Александрович
доктор медицинских наук, профессор
Минков Милен
доктор медицинских наук, профессор
Пантелеев Михаил Александрович
доктор физико-математических наук
Паровичникова Елена Николаевна
доктор медицинских наук, профессор
Птушкин Вадим Вадимович
доктор медицинских наук, профессор
Решетов Игорь Владимирович
доктор медицинских наук, профессор, академик РАН
Румянцев Сергей Александрович
доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН
Талалаев Александр Гаврилович
доктор медицинских наук, профессор
Трахтман Павел Евгеньевич
доктор медицинских наук, профессор
Щербина Анна Юрьевна
доктор медицинских наук, профессор

Редакционный совет

Алексеева Е.И.
доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, Москва, Россия
Атауллаханов Ф.И.
доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, Москва, Россия
Афанасьев Б.В.
доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербург, Россия
Вельте К.
профессор, Тюбинген, Германия
Виллих Н.
профессор, Мюнстер, Германия
Грачев Н.С.
кандидат медицинских наук, Москва, Россия
Карачунский А.И.
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия
Крыжановский О.И.
кандидат медицинских наук, Сан-Франциско, США
Липтон Дж.
профессор, Нью-Йорк, США
Мякова Н.В.
доктор медицинских наук, профессор, Москва, Россия
Накагавара А.
профессор, Чикаго, Япония
Окс Г.
профессор, 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 индексируется в реферативной базе данных «Scopus», Ulrich's Periodicals Directory
и Российском индексе научного цитирования.

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.

Учредители

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр
детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия
Рогачева» Минздрава России, Москва.
Фонд поддержки и развития в области детской гематологии,
онкологии и иммунологии «Врачи, инновации, наука — детям».

Издатель

Фонд поддержки и развития в области детской гематологии,
онкологии и иммунологии «Врачи, инновации, наука — детям».

Журнал «Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии»
является рецензируемым изданием.
Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов.
Тираж 3000 экз.
Цена свободная.
Подписной индекс по каталогам «Роспечать», «АРЗИ», «Урал-пресс»:
для индивидуальных подписчиков, предприятий и организаций — 12914

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

Адрес редакции

117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской
гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России. Редакция журнала «Вопросы гематологии/онкологии
и иммунопатологии в педиатрии».
Тел.: +7 (495) 287-6579, доб. 1396, www.HemOncIm.ru
E-mail: journal@fnkc.ru
По вопросам рекламы: info@vind-fnkc.ru
Тел.: +7 (495) 287-6570, доб. 5523



Editor-in-Chief

Novichkova Galina Anatolyevna
MD, DSc, Professor

Deputy Editors-in-Chief

Maschan Alexey Alexandrovich
MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the RAS

Rumyantsev Alexander Grigoryevich
MD, DSc, Professor, Academician of the RAS

Executive Secretary

Smetanina Nataliya Sergeevna
MD, PhD, DSc, Professor

Members of the Editorial Board

Aleynikova Olga V.
MD, Corresponding Member of the NASB

Balashov Dmitry N.
MD, DSc, Professor

Belogurova Margarita B.
MD, DSc, Professor

Varfolomeeva Svetlana R.
MD, DSc, Professor

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

Demikhov Valeriy G.
MD, DSc, Professor

Kit Oleg I.
MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the RAS

Kulagin Alexander D.
MD, DSc, Professor

Maschan Mikhail A.
MD, DSc, Professor

Minkov Mylen
MD, DSc, Professor

Panteleev Mikhail A.
PhD, DSc

Parovichnikova Elene N.
MD, DSc, Professor

Ptushkin Vadim V.
MD, DSc, Professor

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

Rumyantsev Sergey A.
MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the RAS

Talalaev Alexander G.
MD, DSc, Professor

Trakhtman Pavel E.
MD, DSc, Professor

Shcherbina Anna Yu.
MD, PhD, DSc, Professor

Advisory Editors

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

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

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

Welte K.
Professor, Tübingen, Germany

Willich N.
Professor, Münster, Germany

Grachev N.S.
MD, 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

The journal is indexed in the abstract database «Scopus», Ulrich's Periodicals Directory
and in the Russian Science Citation Index

The journal is included in the List of the leading peer-reviewed journals and publications of the Higher Attestation Commission,
where main scientific findings of PhD and DSc theses are to be published.

Founders

FSBI «Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology» Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow.

Foundation for support and development of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology «Doctors, innovations, science – for children's benefit».

Publisher

Foundation for support and development of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology «Doctors, innovations, science – for children's benefit».

The journal «Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology» is a peer-reviewed publication.

The editors will not be responsible for the contents of the advertising material.

The circulation is 3000 copies.

The price is free.

Subscription indices in the «Rospechat», «ARZI», «Ural-press» catalogue:
for individual subscribers, companies and organizations – 12914

The journal is registered in the Federal Service for Monitoring Compliance with Cultural Heritage Protection Law.

Registration number is ПИ № ФС77–69056

The journal was founded in 2002.

The address of the editorial office

117997, Municipal Post Office-7, 1, Samoy Mashela str.,

FSBI «Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology» Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russia

The editors of the journal: «Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology»

Tel.: +7 (495) 287-6579, extension number 1396,

www.HemOncIm.ru

E-mail: journal@fnkc.ru

Advertising department: info@vind-fnkc.ru

Tel.: +7 (495) 287-6570, extension number 5523

Главный редактор**Новичкова Галина Анатольевна**

доктор медицинских наук, профессор, заместитель генерального директора
по научно-клинической работе, заведующая кафедрой гематологии,
медицинский директор ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Заместители главного редактора**Масчан Алексей Александрович**

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель генерального директора ФГБУ «НМИЦ
ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, директор Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Румянцев Александр Григорьевич

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН,
генеральный директор ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Ответственный секретарь**Сметанина Наталия Сергеевна**

доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора Института гематологии, иммунологии и клеточных
технологий, заместитель главного врача по лечебно-консультативной работе ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России, Москва; профессор кафедры гематологии, онкологии и лучевой терапии
ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Члены редколлегии

Алейникова Ольга Витальевна, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент НАНБ, директор ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Минск, Республика Беларусь

Балашов Дмитрий Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением трансплантации ГСК ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Белогурова Маргарита Борисовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой онкологии Санкт-Петербургской государственной педиатрической медицинской академии, профессор кафедры медико-социальной экспертизы и реабилитации детей-инвалидов Санкт-Петербургского Института врачей-экспертов, Санкт-Петербург

Варфоломеева Светлана Рафаэлевна, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора Института онкологии, радиологии и ядерной медицины, заведующая кафедрой детской онкологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Володин Николай Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий отделом неонатологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Демихов Валерий Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, директор Научно-клинического центра гематологии, онкологии, иммунологии ФГБОУ ВО «РязГМУ» Минздрава России, Рязань

Кит Олег Иванович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Ростовского научно-исследовательского онкологического института Минздрава России, Ростов-на-Дону

Кулагин Александр Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор, заместитель главного врача по гематологии, онкогематологии и ревматологии Клиники ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Масчан Михаил Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заместитель генерального директора ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, директор Высшей школы молекулярной и экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, профессор кафедры гематологии, онкологии и лучевой терапии ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

Минков Милен, доктор медицинских наук, профессор, директор Клиники неонатологии, педиатрии и подростковой медицины в больнице Рудольфштифтинг, Вена, Австрия

Пантелеев Михаил Александрович, доктор физико-математических наук, заведующий лабораторией клеточного гемостаза и тромбоза ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, профессор кафедры биофизики МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Паровичникова Елена Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая научно-клиническим отделом химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга Гематологического научного центра Минздрава России, Москва

Птушкин Вадим Вадимович, доктор медицинских наук, профессор, заместитель главного врача по гематологии ГКБ им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения г. Москвы, профессор кафедры гематологии, онкологии и лучевой терапии ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Решетов Игорь Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор НОКЦ пластической хирургии ГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, заведующий кафедрой пластической хирургии ГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

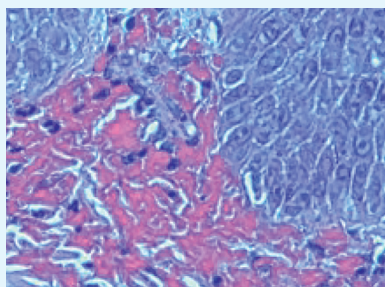
Румянцев Сергей Александрович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой гематологии, онкологии и лучевой терапии ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Талалаев Александр Гаврилович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Трахтман Павел Евгеньевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением трансфузиологии, заготовки и процессинга гемопоэтических стволовых клеток, заведующий кафедрой трансфузиологии и лабораторной диагностики ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Щербина Анна Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий, заведующая отделением и кафедрой клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Оформление обложки:



**Гистологические изменения у пациента
с лейкоцитокластическим васкулитом**
Из статьи С.М. Козловской и соавт., стр. 84

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Применение блинатумаба в лечении детей с рецидивными и рефрактерными формами острого лимфобластного лейкоза

7

Н.В. Мякова, А.А. Масчан, Л.Н. Шелихова, Ю.Ю. Дьяконова, Ю.Г. Абугова,
Д.А. Евстратов, Л.А. Потапенко, В.В. Фоминых, Д.В. Литвинов

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Эффективность профилактики и лечения ранней анемии недоношенных у новорожденных детей, родившихся с экстремально низкой и очень низкой массой тела

13

Д.Р. Шарафутдинова, Е.Н. Балашова, С.В. Павлович, О.В. Ионов, А.Р. Киртбая, А.А. Ленюшкина,
В.В. Зубков, Д.Н. Дегтярёв

Изменение экспрессии CD19 опухолевыми клетками при применении блинатумаба у детей с рецидивами и рефрактерным течением В-линейного острого лимфобластного лейкоза

21

Е.В. Глуханюк, О.И. Илларионова, С.А. Кашпор, С.А. Плясунова, Н.В. Мякова, А.А. Масчан, А.М. Попов

Клинико-лабораторные особенности пациентов с аутоиммунным лимфопролиферативным синдромом

27

О.А. Швец, Е.В. Дерипапа, В.В. Захарова, Д.С. Абрамов, Е.А. Деордиева, Е.А. Викторова, И.Н. Абрамова,
Ю.А. Родина, О.А. Шрагина, Д.Д. Байдильдина, И.И. Калинина, У.Н. Петрова, Е.В. Райкина, Д.М. Коновалов,
А.В. Пшонкин, М.А. Масчан, А.Ю. Щербина

Характеристика молекулярно-генетических дефектов и клинических особенностей в группе пациентов с наследственным ангионевротическим отеком 1-го и 2-го типов

35

Н.Б. Кузьменко, Е.А. Викторова, А.В. Павлова, М.А. Курникова, А.Л. Лаберко, Е.В. Райкина, А.Ю. Щербина

Опухоли семейства Юинга: результаты лечения пациентов детского возраста в Республике Беларусь

43

Л.П. Киселёв

Глиобластомы подкорковых узлов у детей: приговор или нет?	51
М.В. Рыжова, Ш.У. Кадыров, Э.В. Кумирова	

Особенности органосохраняющей шейной лимфодиссекции при злокачественных образованиях головы и шеи у детей	56
Н.С. Грачёв, И.Н. Ворожцов, Н.В. Бабаскина, Е.Ю. Ярёмченко	

Нутритивный статус и эффективность различных типов нутритивной поддержки у пациентов с неходжкинскими лимфомами в активной фазе лечения	62
А.Ю. Вашура, М.С. Шамсутдинова, Д.В. Литвинов	

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Острый миелоидный лейкоз у детей с транслокацией t(8;16)(p11;p13)	69
В.Е. Матвеев, И.И. Калинина, У.Н. Петрова, М.Э. Дубровина, А.С. Старовойтова, А.А. Масчан	

Синдром Кабуки	75
И.В. Кондратенко, Е.Н. Суспицын, С.С. Вахлярская, А.А. Бологов, Е.Н. Имянитов	

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ В КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ

Лейкоцитокластический васкулит у пациента с синдромом Вискотта–Олдрича после терапии плериксафором и гранулоцитарным колониестимулирующим фактором	84
С.Н. Козловская, Д.С. Абрамов, И.П. Шипицына, Д.Н. Балашов	

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Определение молекулярно-генетических подгрупп медуллобластомы на основании анализа уровня экспрессии генов	85
А.Е. Друй, Л.И. Папуша, Л.А. Ясько, Д.М. Коновалов, И.Д. Бородина, М.Б. Белогурова, А.Н. Зайчиков, С.Г. Коваленко, Э.Ф. Валиахметова, С.А. Кузнецов, В.Б. Махонин, О.Э. Чулков, Г.Р. Шарапова, А.А. Румянцев, О.Е. Никонова, Ю.В. Ольшанская, А.И. Карачунский, А.А. Масчан, Г.А. Новичкова	

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

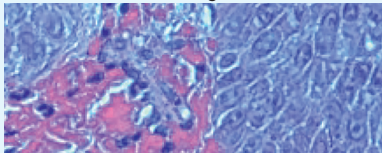
Стимуляция синтеза фетального гемоглобина как альтернативный метод лечения манифестных форм β-талассемии	90
М.В. Красильникова, Н.А. Карамян	

Остеопения и остеопороз после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, особенности нарушений костного минерального обмена у детей	98
Ю.В. Скворцова, Д.Н. Балашов, А.А. Масчан	

Длина теломер и здоровье детей	107
З.Р. Кагирова, И.А. Дёмина, Б.М. Блохин, А.Г. Румянцев	

Content

Cover design:



Histopathology of leukocytoclastic vasculitis
From article S.N. Kozlovskaya, et al. (page 84)

ADVANCED RESEARCH

- Blinatumomab therapy for relapsed and refractory acute lymphoblastic leukemia** 7
N.V. Myakova, A.A. Maschan, L.N. Shelikhova, Yu.Yu. Dyakonova, Yu.G. Abugova, D.A. Yevstratov,
L.A. Potapenko, V.V. Fominykh, D.V. Litvinov

ORIGINAL ARTICLE

- Prevention and treatment of anemia of prematurity in extremely and very low birth weight infants** 13
D.R. Sharafutdinova, E.N. Balashova, S.V. Pavlovich, A.R. Kirtbaya, O.V. Ionov, A.A. Lenyushkina, V.V. Zubkov, D.N. Degtyarev
- Changes in CD19 expression after blinatumomab treatment in pediatric patients with relapsed/refractory B-lineage acute lymphoblastic leukemia** 21
E.V. Gluhanyuk, O.I. Illarionova, S.A. Kashpor, S.A. Plyasunova, N.V. Miakova, A.A. Maschan, A.M. Popov
- Clinical and laboratory characteristics of a group of patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome** 27
O.A. Shvetz, E.V. Deripapa, V.V. Zakharova, D.S. Abramov, E.A. Deordieva, E.A. Victorova, I.N. Abramova, Yu. A. Rodina, O.A. Shragina, D.D. Baidildina, I.I. Kalinina, Y.N. Petrova, E.V. Raikina, D.M. Konovalov, A.V. Pshonkin, M.A. Machan, A.Yu. Shcherbina
- Genetic and clinical characteristics of a group of patients with hereditary angioedema type 1 and 2** 35
N.B. Kuzmenko, E.A. Viktorova, A.V. Pavlova, M.A. Kurnikova, A.L. Laberko, E.V. Raikina, A.Y. Shcherbina
- Tumors of Ewing family: treatment results of pediatric patients in Belarus Republic** 43
L. Kisialeu
- Thalamic glioblastomas in children: a doom or not?** 51
M.V. Ryzhova, Sh.U. Kadyrov, E.V. Kumirowa
- Organ sparing neck dissection for the treatment of head and neck cancers in children** 56
N.S. Grachev, I.N. Vorozhtsov, N.V. Babaskina, E.Yu. Iaremenko
- The nutritional status and efficiency of different types of nutritional support in patients with non-Hodgkin's lymphomas (NHL) in active phase of treatment** 62
A.Yu. Vashura, M.S. Shamsutdinova, D.V. Litvinov

CLINICAL OBSERVATION

- Childhood acute myeloid leukemia with the t(8;16)(p11;p13) translocation** 69
V.E. Matveev, I.I. Kalinina, U.N. Petrova, M.E. Dubrovina, A.S. Starovoitova, A.A. Maschan
- Kabuki syndrome** 75
I.V. Kondratenko, E.N. Suspitsin, S.S. Vakhlyarskaya, A.A. Bologov, E.N. Imyaninov

VISUALISATION IN CLINICAL MEDICINE

- Leukocytoclastic vasculitis after plerixafor and G-CSF in a patient with Wiskott–Aldrich syndrome** 84
S.N. Kozlovskaya, D.S. Abramov, I.P. Shipitsina, D.N. Balashov

CLINICAL IMPLICATION OF FUNDAMENTAL RESEARCH

- Identification of medulloblastoma molecular subgroups by gene expression profiling** 85
A.E. Druy, L.I. Papusha, L.A. Yasko, D.M. Konovalov, I.D. Borodina, M.B. Belogurova, A.N. Zaychikov, S.G. Kovalenko, E.F. Valiakhmetova, S.A. Kuznetsov, V.B. Makhonin, O.E. Chulkov, G.R. Sharapova, A.A. Romyantsev, O.E. Nikonova, Y.V. Olshanskaya, A.I. Karachunskiy, A.A. Maschan, G.A. Novichkova

LITERATURE REVIEW

- Alternative therapies of manifest forms of β -thalassemia: stimulation of fetal hemoglobin synthesis** 90
M.V. Krasilnikova, N.A. Karamjan
- Osteopenia and osteoporosis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, features of bone mineral turnover pathology in children** 98
Y.V. Skvortsova, D.N. Balashov, A.A. Maschan
- Telomere length and children's health** 107
Z.R. Kagirowa, I.A. Demina, B.M. Blokhin, A.G. Romyantsev

Применение блинатумомаба в лечении детей с рецидивными и рефрактерными формами острого лимфобластного лейкоза

Н.В. Мякова, А.А. Масчан, Л.Н. Шелихова, Ю.Ю. Дьяконова, Ю.Г. Абугова, Д.А. Евстратов, Л.А. Потапенко, В.В. Фоминых, Д.В. Литвинов

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

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) – наиболее частое онкологическое заболевание детского возраста. При современных подходах к терапии примерно 85% пациентов с ОЛЛ могут считаться выздоровевшими. Однако лечение рецидивов и резистентных форм заболевания остается проблемой. Проведение высокодозной химиотерапии с последующей аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) считается стандартом терапии для таких больных, но это не всегда эффективно и, как правило, сопряжено с тяжелыми сопутствующими осложнениями. Применение иммунотерапии – блинатумомаба, биспецифичного антитела, позволяет собственным цитотоксическим лимфоцитам пациента распознавать и уничтожать лейкоэмические клетки и достичь полноценной MRD-негативной ремиссии как мостика к ТГСК. Эффективность блинатумомаба, вероятно, зависит от состава лимфоцитов крови пациента, наличия CD19 на клетках опухоли, количества у него бластных клеток. В статье приведены собственные данные о применении блинатумомаба в когорте пациентов с рефрактерными и рецидивными формами В-линейного ОЛЛ и обзор литературы. В исследование вошло 14 пациентов с рефрактерным ОЛЛ из В-предшественников. Медиана возраста – 9 лет. На момент начала терапии блинатумомабом у 8 пациентов в миелограмме имелось более 5% бластов. Блинатумомаб назначали в стандартных дозировках в 28-дневной непрерывной инфузии. Прогрессия отмечена у одного пациента после ТГСК и у двоих – после химиотерапии; у этих пациентов было $\geq 30\%$ бластов перед началом введения блинатумомаба. Остальные 12 детей достигли MRD-негативной ремиссии, 11 из них получили гаплогенетическую ТГСК. Наблюдались следующие токсические эффекты: лихорадка – в 80% случаев; тремор и судороги – по одному случаю. Первый российский опыт применения блинатумомаба у пациентов детского возраста с рефрактерными формами ОЛЛ оказался вполне удачным и может стать основой для проведения последующих контролируемых исследований как у пациентов с рецидивами, так, возможно, и у некоторых групп пациентов с первично диагностированным ОЛЛ.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, блинатумомаб, дети, иммунотерапия, рецидив, рефрактерность, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

Контактная информация:

Мякова Наталья Валериевна,
д-р мед. наук, заведующая отделением онкогематологии НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.

Адрес: 117997, Москва, ГСП-7,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: nmiakova@mail.ru

Blinatumomab therapy for relapsed and refractory acute lymphoblastic leukemia

N.V. Myakova, A.A. Maschan, L.N. Shelikhova, Yu.Yu. Dyakonova, Yu.G. Abugova, D.A. Yevstratov, L.A. Potapenko, V.V. Fominykh, D.V. Litvinov

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

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common oncological disease of childhood. With modern approaches to therapy, approximately 85% of patients with ALL can be considered recovered. However, treatment of relapses and resistant forms of the disease remains a problem. Carrying out high-dosage chemotherapy with subsequent allogeneic TSCS is considered the standard of therapy for such patients. But this is not always effective and, as a rule, is associated with severe concomitant complications. The use of immunotherapy – blinatumomab, a bispecific antibody that allows the patient's own cytotoxic lymphocytes to recognize and destroy leukemia cells, allows achieving full-fledged MRD-negative remission, like a bridge to the TSCC. The effectiveness of blinatumomab probably depends on the composition of the patient's lymphocytes, the presence of CD19 on tumor cells, the number of blast cells in the patient. The article presents own data on the use of blinatumomab in a cohort of patients with refractory and recurrent forms of B-linear ALL and a literature review. The study included 14 patients with refractory ALL from B-progenitors. The median age was 9 years. 8 patients had more than 5% of blasts in the myelogram at the time of onset of therapy with blinatumomab. Blinatumomab was administered at standard dosages in a 28-day continuous infusion. The progression was noted in 1 patient after TSCC and in 2 after HT, all had $\geq 30\%$ of blasts before blinatumomab. The remaining 12 children achieved MRD-negative remission, 11 of them received haploBMT. Of the toxic effects, fever was observed in 80% of cases, 1 case of tremor and 1 case of convulsions. The first Russian experience with the use of blinatumomab in pediatric patients with refractory forms of ALL has proven to be quite successful and may be the basis for subsequent controlled studies both in patients with relapses and, possibly, in some groups of primary diagnosed ALL.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, blinatumomab, children, immunotherapy, relapse, refractory, transplantation of hematopoietic stem cells.

Correspondence:

Natalia V. Myakova, MD, DSc,
Head of the Department of
Oncohematology Dmitriy Rogachev
National Medical Research Center of
Pediatric Hematology, Oncology and
Immunology, Ministry
of Health of Russian Federation.
Address: Russia 117997, Moscow,
Samory Mashela st., 1
E-mail: nmiakova@mail.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-4-7-12

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) составляет 75% всех впервые диагностированных лейкозов – наиболее частых злокачественных заболеваний у детей. Несмотря на успехи последних десятилетий, около 3–5% пациентов оказываются рефрактерными к стандартной индукционной химиотерапии, а у 10–15% пациентов, достигших первой полной клинико-гематологической ремиссии, развиваются рецидивы лейкозов. Для рефрактерных форм и рецидивов ОЛЛ традиционно используют химиотерапию второй линии (более интенсивную, часто с включением альтернативных цитотоксических препаратов) с последующей аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), однако достижение ремиссии высокого качества (с низкой резидуальной опухолевой массой) по-прежнему остается проблемой. Кроме того, развитие неизбежных осложнений интенсивной полихимиотерапии, которые нередко приводят к «токсической» летальности или делают невозможным продолжение дальнейшей адекватной терапии, диктует необходимость внедрения новой терапевтической стратегии для первично-рефрактерного и рецидивного ОЛЛ [1–3].

Расшифровка гетерогенных молекулярных механизмов лейкогенеза и эволюция лейкоемического клона вкупе с достижениями компьютерного моделирования взаимодействия ключевых компонентов метаболических механизмов лейкогенеза привели к появлению таргетных молекулярных агентов. Наиболее яркий пример – иматиниб и последующие поколения ингибиторов BCR-ABL-киназы, применение которых драматически повысило выживаемость у пациентов с Ph¹-позитивным ОЛЛ [2].

В последнее время подлинный ренессанс переживает обогатившаяся новыми концепциями и идеями иммунотерапия ОЛЛ, первые успешные попытки которой были сделаны во Франции Жоржем Матэ с соавт. [4], а в СССР – Н.С. Кисляк и А.Г. Румянцевым с соавт. [5]. На ранних этапах развития иммунотерапии ОЛЛ делались попытки как стимуляции клеточного антилейкемического иммунитета, так и индукции лизиса лейкоемических клеток поликлональными гетерологическими сыворотками (мышинными, кроличьими) или гетерологичными моноклональными антителами, полученными от животных, иммунизированных лейкоемическими лимфобластами. В целом, несмотря на единичные положительные результаты, радикального изменения прогноза популяции пациентов с ОЛЛ под влиянием иммунотерапии не произошло.

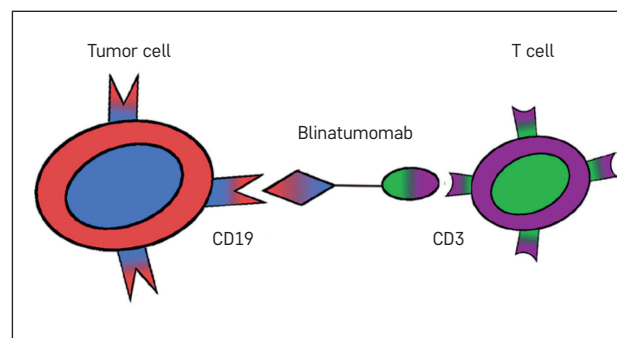
Следующим этапом развития иммунотерапии гемобластозов стало внедрение моноклональных антител (химерных и гуманизированных), направленных против антигенов, с высокой плотностью экспрессируемых большинством лейкоемических

клеток, как, впрочем, и нормальными лимфоидными предшественниками. Пример таких нативных МКА, которые более или менее успешно используются в практике, – ритуксимаб (анти-CD20), алектумумаб (анти-CD52), эпратумумаб (анти-CD22) [6–9], оказавшиеся наиболее эффективными либо при неходжкинских лимфомах, либо при зрелоклеточных лимфопролиферативных синдромах (например, хроническом лимфолейкозе), не оказывая драматического лечебного эффекта при ОЛЛ. Еще более эффективны конъюгированные МКА – препараты, в которых антитело, связанное с различными цитостатиками, радионуклидами или токсинами, позволяет достичь уничтожения опухолевой клетки с минимальным повреждением здоровых тканей. Примеры таких конъюгатов: брентуксимаб ведотин (анти-CD30 + MMAS), гемтузумаб озогамидин (анти-CD33 + калишеамицин), инотумумаб озогамидин (анти-CD22 + калишеамицин), ибритумумаб тиурексан (Y-90 + CD20), тоцитумумаб (I-131 + CD20).

Еще более сложные соединения – биспецифичные антитела (АТ), которые напрямую мобилизуют эффекторные Т-клетки для противоопухолевого эффекта, – так называемые BiTE АТ [10–12]. Одно из таких наиболее эффективных и хорошо изученных АТ – блинатумумаб – биспецифичное анти-CD19/CD3 антитело. Один конец этого одноцепочечного антитела связывается с CD19, а другой – с CD3 (рис.). Таким образом, связываясь с CD19 на лейкоемической клетке и с активирующим сайтом комплекса CD3, блинатумумаб активирует нестимулированные Т-клетки и индуцирует прямую цитотоксичность против CD19 + В-клеточной опухоли.

Рисунок

Механизм действия блинатумумаба: одна часть связывается с CD3, а другая – с CD19: это приводит к разрушению CD19+ клеток лимфоцитами [2]



Преимущество блинатумумаба состоит в том, что этот эффект не зависит ни от специфичности Т-клеточных рецепторов (TCR), ни от наличия молекул 1-го класса основного комплекса гистосовместимости (МНС) на поверхности антиген-презентирующих клеток. При Т-клеточной активации повышается секреция цитокинов, особенно таких, как IL2, IFN-γ,

TNF- α , IL-4, IL-6 и IL-10 [11]. Кроме того, при активации Т-лимфоцитов высвобождаются гранзим и перфорин, которые проникают в клетку опухоли и активируют апоптоз [11, 12].

Самый частый вариант ОЛЛ у детей – опухоль из В-предшественников. Арест дифференцировки может произойти на любом этапе развития В-клетки, однако и на ранних (про-В), и на более продвинутых стадиях созревания они экспрессируют CD19, становясь таким образом мишенью для блинатумомаба.

Клинические исследования блинатумомаба были начаты в 2001 году. Первыми пациентами в *dose-escalation*-исследовании стали взрослые с неходжкинскими лимфомами и хроническим лимфолейкозом. Оказалось, что период полураспада препарата в дозах 0,75–13 мкг/м² составляет всего 2 часа, поэтому был предложен продленный, 24-часовой путь введения. Эти же режимы отработаны и у детей. Препарат вводят в течение 28 дней, перерыв между курсами – 2 недели. Обычно пациенты находятся в стационаре, однако при небольшом объеме опухоли и отсутствии побочных эффектов они могут получать лечение в амбулаторном режиме. В исследовании I–II фазы у детей с рецидивным/рефрактерным преВ-ОЛЛ пациенты получали до пяти таких курсов, и блинатумомаб показал хоро-

шую антилейкемическую активность, позволяя уже после двух курсов достичь ремиссии и получить аллоТГСК [13, 14].

В таблице 1 представлены некоторые клинические исследования, которые в настоящее время проводятся у детей и взрослых с преВ-ОЛЛ.

Блинатумомаб нашел также применение при рецидивах ОЛЛ после аллоТГСК. В различных исследованиях (пока с небольшим количеством пациентов) введение блинатумомаба в дозе 15 мкг/кг/сут приводило к MRD-негативному ответу в среднем у 30% пациентов, как правило, с морфологически верифицированными бластами в различные сроки после ТГСК. Донорские лимфоциты в костном мозге в рецидиве после ТГСК активируются при назначении блинатумомаба, что приводит к противолейкемическому эффекту и позволяет, если есть возможность, провести повторную ТГСК [15].

Таким образом, по данным различных исследований, блинатумомаб зарекомендовал себя как препарат, который в монотерапии позволяет добиться клинко-гематологической ремиссии у пациентов с рецидивами и рефрактерными В-линейными ОЛЛ. Кроме того, блинатумомаб эффективен в цитогенетически неблагоприятных группах, а его токсичность управляема и менее опасна, чем токсичность интенсивной химиотерапии.

Таблица 1

Клинические исследования по применению блинатумомаба у взрослых и детей с В-ОЛЛ [9]

Фаза	Название	Диагноз	Основной вопрос исследования	Дополнительные задачи
II	Phase 2 Trial of Blinatumomab in Philadelphia Positive/BCR-ABL Positive Acute Lymphoblastic Leukemia	Ph + B-ALL Рефрактерный, или не переносящий ингибиторы тирозинкиназы	CR, CRh в течение 2 циклов	MRD-ремиссия в течение 2 циклов ● длительность CR, CRh ● OS ● сколько дошло до ТГСК
III	Blinatumomab in Treating Younger Patients With Relapsed B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia	B-ALL взрослых ● B-ALL детей ● Рецидивы B-ALL у детей и взрослых	DFS	MRD ● уровень морфологической CR ● сколько дошло до ТГСК
II	Blinatumomab and Combination Chemotherapy or Dasatinib, Prednisone, and Blinatumomab in Treating Older Patients With Newly Diagnosed Acute Lymphoblastic Leukemia	Ph+ t(9;22)(q34;q11.2) B-ALL у взрослых	OS	CR ● DFS ● RR ● MRD-негативность ● Токсичность
III	Phase 3 Trial of Blinatumomab vs Investigator's Choice of Chemotherapy in Patients With Relapsed or Refractory ALL	Ph отр B-ALL ● рефрактерный к терапии индукции или второй линии; ● нелеченый ранний (менее 12 мес.) 1 рецидив; ● нелеченый 2 и более рецидив; ● любой рецидив после аллоТГСК	OS	CR в течение 12 недель ● длительность CR ● уровень MRD-ремиссии ● качество жизни ● побочные эффекты ● сколько дошло до ТГСК ● сколько выработало антитела к блинатумомабу ● EFS
III	Combination Chemotherapy With or Without Blinatumomab in Treating Patients With Newly Diagnosed BCR-ABL Negative B Lineage Acute Lymphoblastic Leukemia	B-ALL взрослых ● нелеченый B-ALL взрослых	OS	MRD ● побочные эффекты

Примечание: В-ALL – В-линейный ОЛЛ; CR – полная ремиссия; CRh – полная ремиссия с частичным восстановлением гемопоэза; HSCT – ТГСК, MRD – минимальная резидуальная болезнь; OS – общая выживаемость; DFS – безрецидивная выживаемость; EFS – бессобытийная выживаемость; RR – уровень ответа; Ph – Филадельфийская хромосома.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Собственные наблюдения: блинатумомаб («Блинцито», Амджен) получали 14 детей с рефрактерным преВ-ОЛЛ в нескольких гематологических клиниках России (Москва, Екатеринбург, Санкт-Петербург, Новосибирск) по программе расширенного доступа с декабря 2016 по август 2017 года. Критериями включения в исследование были наличие рефрактерного или рецидивного ОЛЛ с сохранением бластов в костном мозге морфологически и/или положительной MRD после терапии второй линии. К моменту начала курса блинатумомаба пациенты не имели документированного опухолевого нейропоражения (ликвор $\pm$ МРТ). Все пациенты планировали терапию как «мостик» к ТГСК и имели обследованного донора (сиблинга или гаплоидентичного). Во всех случаях

пациенты и их родители подписывали информированное согласие на терапию блинатумомабом.

У всех пациентов клетки опухоли экспрессировали CD19. Исследование MRD проводили методами мультипараметрической проточной цитометрии и ПЦР. Значения ИФТ MRD 1×10^{-4} и ниже считали негативными.

В процессе лечения блинатумомабом химиотерапию никому из пациентов не проводили. При наличии бластома в костном мозге для циторедукции перед введением блинатумомаба использовали блоки интенсивной химиотерапии согласно проводимому протоколу с высокодозным метотрексатом, цитозаром или клофарабином.

Пациенты получали Блинцито путем продленной внутривенной инфузии (центральный венозный катетер) в инициальной дозе 5 мг/м²/сут в течение 7 дней, затем 15 мг/м²/сут в течение 21 дня (при

Таблица 2
Характеристики пациентов

Характеристики пациентов		Количество пациентов, n = 15	Комментарии
Диагноз	ВII-VIII ОЛЛ	13	t(12;21) – 1 пациент
	MLL + ОЛЛ	1	t(4;11) – 1 пациент старше 1 года
	Ph + ОЛЛ	1	Ph + ОЛ – рецидив после ТГСК
Возраст 2г – 16 лет (медиана 9 лет)			
Пол	мальчики	8	
	девочки	7	
Статус	первично-рефрактерный	1	
	1-й рецидив	11	
	2-й рецидив	1	
	рецидив после ТГСК	2	
Лечение до блинатумомаба	МВ 2015	2	После ТГСК морфологически рецидивировали: 1 пациент через 1 год и 1 пациент на +200 сутки; перед введением блинатумомаба получали циторедуктивную ХТ
	ТГСК	2	
	МВ-РЕЦ-2014	11	
Статус ремиссии до блинатумомаба	бласты к/м ³ > 25%	3	
	бласты к/м ³ 5–25%	5	
	морфологическая ремиссия, MRD $\geq 10^{-3}$	5	
	морфологическая ремиссия, MRD < 10^{-3}	2	
Ответ на 1 курс	MRD – 0 ($\leq 10^{-4}$)**	11	Прогрессия отмечена у 1 пациента после ТГСК и у двоих – после ХТ; у всех $\geq 30\%$ бластов перед блинатумомабом
	MRD $\geq 10^{-3}$ **	1	
	прогрессия	3	
Проведена гаплог-ТГСК после блинатумомаба		11	
Смерть	от прогрессии	1	
	от осложнений после ТГСК	1	
Побочные эффекты	лихорадка	14	1 пациент развил судороги на 10-й день введения блинатумомаба, более не возобновлял, но вышел в MRD-негативную ремиссию
	тремор	1	
	судороги	1	
В полной ремиссии после ТГСК (медиана наблюдения – 3,5 мес.)		10	

* Цитологический подсчет мазков, окрашенных по Романовскому.

** По данным проточной цитометрии.

Два пациента получили по два курса блинатумомаба, несмотря на негативную MRD после 1-го курса.

Одному ребенку не могли провести ТГСК из-за тяжелых инфекционных осложнений, второму ребенку ТГСК провели в другой клинике.

массе тела пациента более 45 кг доза препарата составляла 9 мкг/сут и 28 мкг/сут соответственно). При повторных циклах интервал между ними составлял 14 дней. Пациентов, получивших MRD-негативную ремиссию, направляли на ТГСК от гаплоидентичного или родственного совместимого донора.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристики пациентов представлены в *таблице 2*. Наш опыт применения блинатумомаба показал, что этот препарат достаточно эффективен у пациентов с рефрактерными и рецидивными формами ОЛЛ. В данной когорте пациентов, многие из которых были значительно предлечены и не достигли ремиссии, вероятность эффективного использования препарата составила 78%. Это значительно более высокий показатель по сравнению с данными немецкой группы исследователей: вероятнее всего, они наблюдали только пациентов с морфологическим рецидивом, а мы еще и пациентов с положительной MRD, но без повышенного числа бластных клеток в миелограмме [16]. Выраженность эффекта препарата зависит прежде всего от объема опухоли. Возможно, количество бластов, равное 20–30%, – пограничное для достижения эффекта, но это предположение требует дальнейших исследований на большем количестве пациентов.

Во всех исследованиях пациенты страдали как минимум однократно от различных побочных эффектов блинатумомаба. Наиболее частые из них представлены в *таблице 3*. Тяжелые осложнения наблюдались у 5–20% пациентов и включали энцефалопатию, тремор, афазию, судороги, нарушения координации и сознания. Редкими серьезными побочными реакциями в исследованиях II фазы были диссеминированное внутрисосудистое свертывание,

фатальные инфекции и синдром высвобождения цитокинов (*cytokine-releasing syndrome* – CRS), связанный с высвобождением интерлейкинов, интерферона, TNF α , Т-клеток-эффекторов. Пик выброса этих цитокинов приходится на 1-й день терапии и приводит к гриппоподобному синдрому, гипотензии, ознобу, повышению проницаемости капилляров. Иногда CRS проявляется тошнотой, рвотой, сыпью или только изменением лабораторных показателей – повышением С-реактивного белка, АЛТ/АСТ, ферритина. Эти события происходят в первые дни введения препарата, затем быстро развивается периферическая В-лимфоцитопения, и последующее связывание блинатумомаба с одним CD3 уже не приводит к выбросу цитокинов. Обычно при наличии неврологических осложнений или CRS пациентам назначают дексаметазон в течение 3 дней с быстрой отменой. Кроме того, дексаметазон назначают в качестве предфазы в течение 5 дней для снижения опухолевого объема перед блинатумомабом и в премедикации перед первым введением препарата или повышением дозы. При тяжелой некупируемой лихорадке препаратом выбора может стать тоцилизумаб – антитело к интерлейкину 6. В связи с тем, что дифференцировать CRS с септическим состоянием бывает трудно как клинически, так и лабораторно, этих пациентов следует тщательно обследовать на предмет инфекционных осложнений, и до полного их исключения они должны получать терапию антибиотиками широкого спектра действия [17, 18]. После ТГСК спектр побочных явлений при необходимости введения блинатумомаба был тем же, однако есть описания реактивации реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) после его применения.

Токсичность блинатумомаба у детей в нашей группе была вполне управляемой. Высокую лихорадку на первой неделе введения отмечали только

Таблица 3

Побочные эффекты в клинических исследованиях блинатумомаба II фазы (n = 189), % [14]

Побочный эффект	При любой степени тяжести	1–2-я степень	3-я степень	4-я степень	5-я степень
Неврологические реакции	52	39	11	2	0
Фебрильная нейтропения	28	3	24	1	0
Нейтропения	17	2	5	11	0
Анемия	20	6	13	1	0
Пневмония	10	1	7	1	1
Тромбоцитопения	11	3	1	7	0
Гипергликемия	13	5	8	0	0
Лейкопения	10	2	4	4	0
Повышение АЛТ	13	6	6	1	0
Гипокалиемия	24	17	5	2	0
Пирексия	60	53	7	0	0
Сепсис	7	1	2	2	2
Гипофосфатемия	7	2	4	1	0

у двух пациентов, у остальных – одно-/двукратно в первые 1–3 дня. Снижение температуры и контроль иных проявлений системного воспалительного синдрома проводили стероидами и/или тоцилизумабом (у двух пациентов). У одного пациента после повышения дозы с 5 до 15 мкг/кг/сут на 8-й день терапии появился тремор, а на 10-й день развился эпилептический статус, потребовавший перевода в ОРИТ и терапии тиопенталом в течение 2 суток. После этого введение блинатумаба не возобновляли, однако пациент достиг MRD-негативной ремиссии и получил ТГСК от гаплоидентичного донора. Из всех пациентов, которые получили ТГСК, никто в дальнейшем не имел дополнительных проблем или РТПХ, которые можно было бы связать с предшествующим введением блинатумаба.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Первый опыт применения российского блинатумаба у пациентов детского возраста с рефрактерными формами ОЛЛ оказался вполне удачным и может быть основой для проведения последующих контролируемых исследований как у пациентов с рецидивами, так, возможно, и у некоторых групп пациентов с первично диагностированным ОЛЛ.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Н.В. Мякова <http://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

А.А. Масчан <http://orcid.org/0000-0002-0016-6698>

Ю.Ю. Дьяконова <http://orcid.org/0000-0002-8725-7532>

Д.В. Литвинов <http://orcid.org/0000-0002-7461-0050>

Литература

- Henze G.A., Stackelberg V., Eckert C. ALL-REZ BFM – The Consecutive Trials for Children with Relapsed Acute Lymphoblastic Leukemia. *Klin Padiatr* 2013; 225 (Suppl. 1): S73–S78.
- Locatelli F., Moretta F., Rutella S. Management of relapsed acute lymphoblastic leukemia in childhood with conventional and innovative approaches. *Curr Opin Oncol* 2013; 25: 707–15.
- Oriol A., Vives S., Hernandez-Rivas J.M., Tormo M., Heras I., Rivas C., et al. Outcome after relapse of acute lymphoblastic leukemia in adult patients included in four consecutive risk-adapted trials by the PETHEMA Study Group. *Haematologica* 2010; 95(4): 589–96.
- Mathé G., Amiel J.L., et al. First result of active immunotherapy in the treatment of acute lymphoblastic leukaemia in man. *Lancet* 1969; 1: 697.
- Берггольц И.М., Кисляк Н.С., Еремеев В.С. Иммунология и иммунотерапия лейкоза. – М.: Медицина, 1978.
- Thomas D.A., Kantarjian H., Smith T.L., et al. Primary refractory and relapsed adult acute lymphoblastic leukemia: characteristics, treatment results, and prognosis with salvage therapy. *Cancer* 1999; 86 (7): 1216–30.
- Fielding A.K., Richards S.M., Chopra R., et al. Outcome of 609 adults after relapse of acute lymphoblastic leukemia (ALL); an MRC UKALL12/ECOG 2993 study. *Blood* 2007; 109 (3): 944–50.
- Le Jeune C., Thomas X. Antibody-based therapies in B-cell lineage acute lymphoblastic leukaemia. *Eur J Haematol* 2014; 94 (2): 99–108.
- Jing A., Advani A. Current status of antibody therapy in ALL. 2014 John Wiley & Sons Ltd, *British Journal of Haematology*, doi: 10.1111/bjh.13205.
- August K.J., Narendran A., Neville K.A. Pediatric Relapsed or Refractory Leukemia. *New Pharmacotherapeutic Developments and Future Directions, Drugs* 2013 Apr; 73 (5): 439–61.
- Le Jeune C., Thomas X. Potential for bispecific T-cell engagers: role of blinatumomab in acute lymphoblastic leukemia. *Drug Design, Development and Therapy*, 2016.
- Wu J., Fu J., Zhang M., et al. Blinatumomab: a bispecific T-cell engager (BITE) antibody against CD19/CD3 for refractory acute lymphoid leukemia. *J Hematol Oncol* 2015; 8: 104.
- von Stackelberg A., Locatelli F., Zugmaier G., et al. Phase I/Phase II Study of Blinatumomab in Pediatric Patients With Relapsed/Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol* 2016; 34 (36): 4381–9.
- Topp M.S., Gökbuget N., Stein A.S., et al. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2015; 16 (1): 57–66.
- Kantarjian H., Stein A., Gökbuget N., et al. Blinatumomab versus Chemotherapy for Advanced Acute Lymphoblastic Leukemia. *The new England Journal of Medicine* 2017; 376: 836–47.
- Folan S.A., Rexwinkle A., Autry J., Bryan J.C. Blinatumomab: Bridging the Gap in Adult Relapsed/Refractory B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia* 2016; 16: S1, S2–5.
- Barrett D.M., Teachey D.T., Grupp S.A. Toxicity management for patients receiving novel T-cell engaging therapies. *Hematology and oncology* 2017; p. 43–5.
- Frey N.V., Porter D.L. Cytokine release syndrome with novel therapeutics for acute lymphoblastic leukemia. *Hematology* 2016, American Society of Hematology, p. 567–2.

Эффективность профилактики и лечения ранней анемии недоношенных у новорожденных детей, родившихся с экстремально низкой и очень низкой массой тела

Д.Р. Шарафутдинова¹, Е.Н. Балашова¹, С.В. Павлович^{1,2}, О.В. Ионов^{1,2},
А.Р. Киртбая^{1,2}, А.А. Ленюшкина¹, В.В. Зубков^{1,2}, Д.Н. Дегтярев^{1,2}

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва

² ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

На основании данных литературы и собственного опыта рассмотрены принципы лечения и профилактики ранней анемии недоношенных у детей с очень низкой массой тела (ОНМТ) и экстремально низкой массой тела (ЭНМТ) при рождении. Представлены результаты ретроспективного исследования, в которое были включены 105 недоношенных с ОНМТ и ЭНМТ, рожденные с января 2004 по декабрь 2016 года. Анализировали частоту и объем гемотрансфузий, возраст новорожденных при проведении первой гемотрансфузии, осложнения и исходы противоанемических профилактических и лечебных мероприятий, проведенных у детей с ОНМТ и ЭНМТ. Выявлено статистически значимое снижение частоты гемотрансфузий у детей при применении комплекса профилактических мер, включающих сочетание отсроченного пережатия пуповины (сцеживание/«милкинг») и последующей терапии эритропоэтином, стимулятором эритропоэза. В группе детей, получавших терапию эритропоэтином, но не прошедших процедуру сцеживания пуповины, не выявлено статистически значимого снижения частоты гемотрансфузий. Показано, что трансфузия эритроцитсодержащих компонентов крови повышает риск развития бронхолегочной дисплазии, ретинопатии и перивентрикулярной лейкомаляции. Поздняя терапия эритропоэтином (с 8-х суток жизни) не повышает риск развития тяжелых форм ретинопатии недоношенных.

Ключевые слова: ранняя анемия недоношенных, гемотрансфузия, рекомбинантный человеческий эритропоэтин, сцеживание пуповины.

Контактная информация:

Шарафутдинова Диана Рашидовна, аспирант НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России. Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, 4. Тел.: 8 (495) 438-2277. E-mail: dikarush@gmail.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-4-13-20

Prevention and treatment of anemia of prematurity in extremely and very low birth weight infants

D.R. Sharafutdinova¹, E.N. Balashova¹, S.V. Pavlovich^{1,2}, A.R. Kirtbaya^{1,2}, O.V. Ionov^{1,2}, A.A. Lenyushkina¹,
V.V. Zubkov^{1,2}, D.N. Degtyarev^{1,2}

¹ The V.I. Kulakov National medical research center for obstetrics, gynecology and perinatology Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Evaluation and treatment of anemia of prematurity in extremely and very low birth weight infants are presented in this article. Research has been set as a retrospective analysis of 105 infants with anemia of prematurity (in the period from January 2004 to December 2016). This study aimed to analyze the frequency, the volume of red blood cells (RBC) transfusions, the age of the first RBC transfusion and factors associated with RBC transfusions in extremely and very low birth weight preterm infants. A combination of delayed umbilical cord clamping ("milking") and therapy with erythropoietin decrease significantly the frequency of RBC transfusion. There was no significant reduction in the frequency of RBC transfusions in the group of children treated only with erythropoietin, without milking. RBC transfusions increase the risk of bronchopulmonary dysplasia, retinopathy and periventricular leukomalacia. Late therapy with erythropoietin (from 8 days of life) does not increase the risk of developing severe forms of retinopathy of prematurity.

Key words: anemia of prematurity, red blood cell transfusion, recombinant human erythropoietin, umbilical cord milking.

Correspondence:

Diana R. Sharafutdinova, graduate student of the Neonatal Intensive Care Unit, The V.I. Kulakov National medical research center for obstetrics, gynecology and perinatology Ministry of Health of the Russian Federation. Address: Russia 117997, Moscow, Samoy Mashela st., 1. Tel.: +7 (495) 438-2277. E-mail: dikarush@gmail.com

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно рождаются преждевременно 15 млн детей [1]. Совершенствование технологий выхаживания в области перинатальной и неонатальной медицины привело к заметному увеличению выживаемости глубоко недоношенных новорожденных. Наряду со снижением смертности отмечено повышение риска развития

инвалидирующих осложнений у выживших новорожденных. Дети с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ) и очень низкой массой тела (ОНМТ) при рождении подвержены более высокому риску развития тяжелых состояний, таких как внутрижелудочковое кровоизлияние (ВЖК), некротизирующий энтероколит (НЭК), ретинопатия недоношенности (РН) и ранняя анемия недоношенных (РАН) [2–4].

РАН – часто встречающаяся патология у недоношенных детей. По данным разных авторов, частота РАН составляет от 16,5 до 91,3% и имеет обратную зависимость от гестационного возраста и массы тела при рождении [5, 6]. Недоношенные дети, особенно новорожденные с ОНМТ при рождении, подвержены более высокому риску проведения по крайней мере одной, а зачастую и нескольких гемотрансфузий в течение неонатального периода [7]. В 50–80% случаев новорожденным гестационного возраста менее 32 недель требуется проведение гемотрансфузии компонентов красной крови с целью коррекции анемии недоношенных [6–8]. Около 65% детей с ЭНМТ переносят первую гемотрансфузию в течение первых 2 недель жизни, а 90% новорожденных с ЭНМТ в течение периода госпитализации проводят по меньшей мере одну гемотрансфузию [6].

Патогенез ранней анемии недоношенных имеет мультифакторный характер и связан преимущественно с задержкой эритропоэза, обусловленной низким уровнем эритропоэтина, морфологическими особенностями эритроцитов, способствующими укорочению их жизни, флеботомическими потерями крови (частыми заборами крови для проведения лабораторных обследований), а также с заболеваниями, приводящими к снижению количества клеток красной крови вследствие кровотечения или гемолиза. Для недоношенных детей характерно «особое» переключение фетального гемоглобина в условиях рождения до 32-й недели гестации, то есть до срока физиологической смены гемоглобина на взрослый тип [5, 6].

Основной способ коррекции ранней анемии недоношенных – гемотрансфузия. В большинстве случаев используют лейкофильтрованную донорскую эритроцитарную взвесь, содержащую гемоглобин взрослого типа (HbA).

Предмет специального изучения – критерии коррекции ранней анемии у недоношенных новорожденных. В настоящее время не существует единого протокола и клинических рекомендаций по показаниям к проведению гемотрансфузии у недоношенных новорожденных. Активно обсуждается вопрос об отдаленных исходах, в том числе неврологических, у глубоко недоношенных новорожденных, которым проводили гемотрансфузии на основании различных протоколов [9]. В ряде исследований отмечено, что гемотрансфузии, особенно неоднократные, могут приводить к развитию таких жизнеугрожающих осложнений у недоношенных новорожденных, как внутрижелудочковые кровоизлияния и некротизирующий энтероколит [8, 10, 11]. РАН у глубоко недоношенных новорожденных, перенесших неоднократные гемотрансфузии, чаще ассоциирована с бронхолегочной дисплазией (БЛД), РН и перивентрикулярной лейкомаляцией (ПВЛ) [12, 13]. С целью профилак-

ки РАН проводят процедуру сцеживания пуповины и терапию эритропоэтином, железосодержащими препаратами, витаминотерапию. Выбор тактики лечения и профилактики анемии у недоношенных новорожденных – актуальный вопрос, требующий дальнейших исследований.

Целью проведенного нами исследования была оценка эффективности профилактики, частоты осложнений и исходов лечения ранней анемии у недоношенных с ЭНМТ, ОНМТ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На базе отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных (ОРИТН) Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России проведено ретроспективное исследование в период с января 2004 по декабрь 2016 года. В исследование были включены 105 новорожденных с ОНМТ и ЭНМТ при рождении, которым провели гемотрансфузии с целью коррекции РАН. Недоношенных с множественными пороками развития, врожденными пороками сердца, хромосомными патологиями, метаболическими заболеваниями, гемолитической болезнью новорожденных, постгеморрагической анемией, фето-фетальным трансфузионным синдромом, а также умерших до проведения первой гемотрансфузии или в случае проведения гемотрансфузии в первые 7 суток жизни (далее – с.ж.) в исследование не включали.

Всем недоношенным новорожденным, включенным в исследование, гемотрансфузию проводили согласно внутреннему протоколу ОРИТН отдела неонатологии и педиатрии.

Гемотрансфузию проводили недоношенным новорожденным, имевшим следующие показатели: потребность в проведении искусственной вентиляции легких (ИВЛ) при $MAP > 8$ см H_2O , $FiO_2 > 0,4$ и показателях гематокрита венозной крови $Ht \leq 35\%$; на ИВЛ при $MAP \leq 8$ / или неинвазивной вентиляции легких и $FiO_2 \leq 0,4$ при значениях венозного $Ht \leq 30\%$; при уровне венозного $Ht \leq 25\%$, при отсутствии потребности в ИВЛ, но сохраняющейся кислородозависимости или потребности в неинвазивной респираторной терапии – СРАР/ВПК (в возрасте старше 28 с.ж.) и $FiO_2 \leq 0,30$ плюс один или несколько из следующих симптомов: сохраняющаяся > 24 ч тахикардия ($ЧСС > 180$) или тахипноэ ($ЧД > 80$); повышение потребности в кислороде за последние 48 ч, определяемое как 4-кратное и более повышение потока в назальной канюле (например, с $1/4$ до 1 л/мин), или повышение потребности в уровне назального СРАР $\geq 20\%$ за предыдущие 48 ч; повышение потребности в дополнительном кислороде $FiO_2 \geq 10\%$;

прибавка < 10 г/кг/день в течение 4 дней, несмотря на калорийность питания > 100 ккал/кг/день; учащение эпизодов апноэ/брадикардии (> 10 за сутки или > 2 эпизодов, потребовавших вентиляции с помощью мешка и маски, несмотря на назначение терапевтических доз метилксантинов); повышение лактата > 2,5 мэкв/л; предстоящее оперативное вмешательство. Значения венозного Ht ≤ 20% было абсолютным показанием к проведению гемотрансфузии.

Гемотрансфузию проводили в соответствии с приказом Минздрава России от 02.04.2013 г. № 183н «Об утверждении правил клинического использования донорской крови и (или) ее компонентов».

Проанализированы массо-ростовые параметры при рождении, способ родоразрешения, оценка по шкале Апгар на 1-й и 5-й минутах жизни, гестационный возраст, сроки первой трансфузии, частота и общий объем гемотрансфузий, частота развития исходов и осложнений (РН II–III стадии, НЭК II–III стадии, тяжелая и среднетяжелая форма БЛД, ПВД).

Диагноз «ретинопатия» устанавливали согласно международной классификации РН; диагноз «БЛД» – согласно критериям A.H. Jobe и E. Bancalari в скоригированном возрасте 36 нед. [14]; «НЭК» – по клинико-лабораторным и инструментальным критериям по классификации Bell.

В период проведения гемотрансфузии энтеральное питание не отменяли. Гемотрансфузию проводили в два приема с интервалом 4 часа. Скорость гемотрансфузии – от 3 до 5 мл/кг/ч.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программ *Statistica 7* и *Microsoft Excel 2013*. При оценке количественных показателей вычисляли медиану, минимальное (min) и максимальное (max) значения. Физическое развитие недоношенных новорожденных оценивали с помощью кривых роста Фентона отдельно для детей женского и мужского пола (Fenton T.R., 2013), учитывающих 3-й, 10-й, 50-й, 90-й и 97-й перцентиль массы тела, роста и окружности головы детей. Для оценки различий между двумя независимыми выборками использовали U-критерий Манна–Уитни. Для выявления и оценки связи между количественными показателями использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Оценку статистических связей между переменными проводили с расчетом меры ассоциации: отношение шансов (ОШ) – это шансы развития исхода при наличии воздействия, деленные на шансы развития исхода при отсутствии воздействия. Для оценки значимости отношения риска и шансов проводили расчет границы 95%-го доверительного интервала (95% ДИ или 95% CI). Вероятность ошибки < 0,05 соответствовала статистической значимости.

Все недоношенные новорожденные дети были

разделены на три группы в зависимости от тактики лечения и профилактики РАН.

1-я группа – дети, которым с антианемической целью назначали препараты железа, витаминотерапию (фолиевая кислота, витамин Е) – группа «без рчЭПО и сцеживания пуповины» – 34 новорожденных ребенка (ОНМТ – 13, ЭНМТ – 21);

2-я группа – дети, которым с противоанемической целью назначали препараты рчЭПО (рекомбинантного человеческого эритропоэтина), препараты железа, витаминотерапию (фолиевая кислота, витамин Е) – группа «рчЭПО» – 35 новорожденных детей (ОНМТ – 11, ЭНМТ – 24);

3-я группа – дети, которым при рождении проводили сцеживание пуповины и с антианемической целью назначали препараты рчЭПО, препараты железа, витаминотерапию (фолиевая кислота, витамин Е) – группа «сцеживание + рчЭПО» – 36 новорожденных детей (ОНМТ – 10, ЭНМТ – 26).

Терапию рчЭПО начинали не ранее 6 с.ж. ($8,4 \pm 1,6$ с.ж.), по инструкции к препарату в дозе 200–250 МЕ/кг 3 раза в неделю подкожно. Длительность терапии – $5,1 \pm 1,4$ нед.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведен ретроспективный анализ 105 историй болезни недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ, сроком гестации от 24 до 33 нед., которым была выполнена гемотрансфузия с целью коррекции РАН; все дети соответствовали критериям включения.

В таблице 1 представлены данные детей исследуемых групп: они не различались по массе и длине тела при рождении. Все родоразрешения были произведены путем операции кесарева сечения. Доля детей малого размера/массы тела к сроку гестации была больше во 2-й группе (34%), однако достоверных отличий во всех группах не было. По гестационному возрасту (ГВ) отличия в группах имелись у детей с ОНМТ. Оценка по Апгар на 1-й и 5-й минутах жизни была выше в 3-й группе по сравнению с 1-й и 2-й, что, вероятно, связано с введением нового протокола по оказанию реанимационной помощи в родильном зале для недоношенных новорожденных.

Между исследуемыми группами отсутствовали различия в длительности лечения в условиях ОРИТН (табл. 2). Частота гемотрансфузий в 3-й группе по сравнению с 1-й группой была достоверно ниже. Между 2-й и 3-й группами достоверных различий в частоте гемотрансфузий не выявлено: во 2-й и 3-й группах медиана (min–max) – 1 (1–4) гемотрансфузия в течение госпитализации; $p = 0,33$. Обращает на себя внимание достоверное снижение частоты гемотрансфузий во 2-й и 3-й группах по сравнению с 1-й группой среди детей с ЭНМТ: в 1-й группе медиана

Таблица 1

Характеристики новорожденных, включенных в исследование

Показатель		1-я группа не проводили тера- пию рЧЭПО и сцежи- вание пуповины (n = 34)	2-я группа проводили терапию рЧЭПО (n = 35)	3-я группа проводили сцеживание пуповины + терапию рЧЭПО (n = 36)	p 1–2-я группа	p 2–3-я группа	p 1–3-я группа
Число детей, асб. (%)	Общ.	34	35	36			
	ОНМТ	13 (38%)	11 (31%)	10 (28%)			
	ЭНМТ	21 (62%)	24 (69%)	26 (72%)			
Гестационный возраст, нед., медиана (min-max)	Общ.	28 (24–33)	28 (24–32)	28 (25–32)	0,85	0,90	0,46
	ОНМТ	30 (28–32)	28 (26–31)	30 (27–32)	0,037	0,027	0,44
	ЭНМТ	27 (24–33)	28 (24–32)	27 (25–32)	0,19	0,08	0,46
Масса тела, г, медиана (min-max)	Общ.	913,5 (490–1496)	951 (580–1486)	924 (630–1495)	0,77	0,84	0,79
	ОНМТ	1339 (1001–1496)	1240 (1001–1486)	1185 (1130–1495)	0,51	0,88	0,66
	ЭНМТ	850 (490–990)	880 (580–998)	860 (630–995)	0,13	0,60	0,29
Рост, см, медиана (min-max)	Общ.	35 (23–41)	34 (25–40)	34 (25–40)	0,58	0,91	0,29
	ОНМТ	38 (34–41)	37 (33–40)	38 (33–40)	0,23	0,81	0,50
	ЭНМТ	33,5 (23–36)	33 (25–39)	33 (25–40)	0,99	0,27	0,79
Оценка по Апгар, 1-я мин., баллы, медиана (min-max)	Общ.	5 (1–7)	5 (1–7)	6 (1–7)	0,38	0,029	0,017
	ОНМТ	5 (1–7)	4 (3–6)	6 (5–7)	0,25	0,003	0,24
	ЭНМТ	4 (1–7)	5 (1–7)	6 (1–7)	0,07	0,36	0,041
Оценка по Апгар, 5-я мин., баллы, медиана (min-max)	Общ.	7 (3–8)	7 (3–8)	7 (4–8)	0,71	0,051	0,058
	ОНМТ	7 (6–8)	7 (4–7)	7 (7–8)	0,28	0,021	0,75
	ЭНМТ	6 (3–8)	7 (3–8)	7 (4–8)	0,22	0,26	0,048
Мальчики, асб. (%)	Общ.	16 (47%)	17 (49%)	16 (44%)	0,8	0,7	0,90
	ОНМТ	10 (76%)	7 (63%)	5 (50%)	0,57	0,46	0,18
	ЭНМТ	6 (28%)	10 (42%)	11 (42%)	0,36	0,98	0,36
Девочки, асб. (%)	Общ.	18 (53%)	18 (51%)	20 (56%)	0,8	0,7	0,90
	ОНМТ	3 (23%)	4 (36%)	5 (50%)	0,57	0,46	0,18
	ЭНМТ	15 (71%)	14 (58%)	15 (58%)	0,36	0,98	0,36
Малый размер/масса тела к сроку гестации, асб. (%)	Общ.	7 (21%)	12 (34%)	8 (22%)	0,15	0,26	0,71
	ОНМТ	1 (7,6%)	0	1 (10%)	0,40	0,29	0,84
	ЭНМТ	6 (28%)	12 (50%)	7 (27%)	0,15	0,096	0,84

Таблица 2

Сравнение клинических показателей

Показатель		1-я группа не проводили тера- пию рЧЭПО и сцежи- вание пуповины (n = 34)	2-я группа проводили терапию рЧЭПО (n = 35)	3-я группа проводили сцеживание пуповины + терапию рЧЭПО (n = 36)	p 1–2-я группа	p 2–3-я группа	p 1–3-я группа
Длительность пребывания в ОРИТН, сут., медиана (min-max)	Общ.	43 (15–87)	40 (17–74)	40 (18–85)	0,25	0,9	0,28
	ОНМТ	38 (15–65)	40 (20–61)	32,5 (22–46)	0,91	0,28	0,34
	ЭНМТ	48 (25–87)	40,5 (17–74)	49 (18–85)	0,12	0,22	0,65
1-я гемотрансфузия, сут. жизни, медиана (min-max)	Общ.	15 (8–36)	16 (8–38)	15 (8–28)	0,62	0,07	0,18
	ОНМТ	21 (9–36)	17 (9–38)	16 (13–22)	0,62	0,41	0,21
	ЭНМТ	14 (8–31)	16 (8–36)	15 (8–28)	0,20	0,23	0,90
Частота гемотрансфузий, медиана (min-max)	Общ.	2 (1–4)	1 (1–4)	1 (1–4)	0,14	0,33	0,022
	ОНМТ	1 (1–3)	1 (1–4)	1 (1–3)	0,80	0,35	0,33
	ЭНМТ	3 (1–4)	2 (1–4)	1 (1–4)	0,0301	0,56	0,014
Объем общий гемотрансфузий за период госпитализации, мл/кг, медиана (min-max)	Общ.	30 (10–73)	20 (10–60)	20 (10–92)	0,08	0,48	0,35
	ОНМТ	20 (10–50)	15 (10–60)	15 (10–35)	0,63	0,42	0,20
	ЭНМТ	35 (10–73)	26 (10–60)	32,5 (15–92)	0,0403	0,21	0,44

(min-max) – 3 (1–4) гемотрансфузии в течение госпитализации; во 2-й группе – 2 (1–4); в 3-й группе – 1 (1–4); $p < 0,05$). В то же время суммарный объем гемотрансфузий (мл/кг) за период госпитализации среди детей с ЭНМТ при рождении во 2-й группе был достоверно меньше, чем в 1-й группе ($p < 0,05$).

Частота РН II–III стадии, а также БЛД достоверно не отличались в исследуемых группах (табл. 3):

частота РН II–III степени в 1-й группе составила 35%; во 2-й группе – 31%; в 3-й группе – 39%; частота БЛД – 29; 23 и 25% соответственно. Отмечено достоверное снижение частоты ПВЛ в обеих группах новорожденных, получавших терапию эритропозтином, по сравнению с 1-й группой. Данный феномен может быть связан с нейропротективным действием рЧЭПО. Отмечено достоверное увеличение частоты НЭК $\geq$ II

Таблица 3

Исходы и осложнения

Показатель		1-я группа не проводили тера- пию рЧЭПО и сцежи- вание пуповины (n = 34)	2-я группа проводили терапию рЧЭПО (n = 35)	3-я группа проводили сцеживание пуповины + терапию рЧЭПО (n = 36)	p 1–2-я группы	p 2–3-я группы	p 1–3-я группы
РН, 2–3 ст., абс. (%)	Общ.	12 (35%)	11 (31%)	14 (39%)	0,79	0,78	0,58
	ОНМТ	3 (23%)	4 (36%)	1 (10%)	0,32	0,16	0,42
	ЭНМТ	9 (42%)	7 (29%)	13 (50%)	0,28	0,33	0,85
РН > 3-й ст., /лазерная коагуляция, абс.	Общ.	0	0	2	–	–	0,22
	ОНМТ	0	0	0	–	–	–
	ЭНМТ	0	0	2	–	0,16	0,19
ПВЛ, абс. (%)	Общ.	7 (21%)	2 (6%)	1 (3%)	0,022	0,8	0,020
	ОНМТ	2 (15%)	0	0	0,16	–	0,20
	ЭНМТ	5 (24%)	2 (8%)	1 (4%)	0,055	0,95	0,04
НЭК ≥ 2-й ст., абс. (%)	Общ.	3 (9%)	8 (23%)	2 (6%)	0,114	0,037	0,59
	ОНМТ	0	1 (9%)	0 (%)	0,29	0,8	–
	ЭНМТ	3 (14%)	7 (29%)	2 (8%)	0,23	0,0506	0,47
БЛД, средняя и тяжелая, абс. (%)	Общ.	10 (29%)	8 (23%)	9 (25%)	0,49	0,58	0,20
	ОНМТ	3 (23%)	3 (27%)	2 (20%)	0,91	0,36	0,42
	ЭНМТ	7 (33%)	5 (21%)	7 (27%)	0,35	0,98	0,32

стадии во 2-й группе, в основном за счет недоношенных с ЭНМТ.

Проведен корреляционный анализ между сроком первой трансфузии и частотой с общим объемом проводимых трансфузий. Получена достоверная обратная корреляция: ранние сроки первой трансфузии достоверно коррелируют с увеличением объема и частотой проводимых трансфузий ($r = -0,35$; $p < 0,05$ и $r = -0,32$; $p < 0,05$ соответственно).

Проведен сравнительный анализ потребности в проведении гемотрансфузии, развития исходов и осложнений в зависимости от тактики терапии (табл. 4). Выявлено, что потребность в проведении гемотрансфузий в 3-й группе (с терапией рЧЭПО и сцеживанием пуповины) в 2,8 раза меньше, чем в 1-й группе (без терапии рЧЭПО). Не выявлено статистически значимой разницы в необходимости гемотрансфузий между группами детей, которым не проводили терапию рЧЭПО (1-я группа) и получавшими только терапию рЧЭПО (2-я группа), а также между группами новорожденных, которым проводили только терапию рЧЭПО (2-я группа) и комбинацию рЧЭПО и сцеживание пуповины (3-я группа) (табл. 4).

В таблице 5 представлены данные о возникновении исходов и осложнений в зависимости от количества трансфузий (более и менее двух гемотрансфузий).

Потребность в назначении гемотрансфузии пациентам различных групп, получавшим разные виды профилактики анемии

Вид профилактики анемии недоношенных	Отношение шансов проведения гемотрансфузий	95% ДИ (CI)
рЧЭПО «+» vs «-» (1-я и 2-я группы)	1,71	0,65 (4,45)
рЧЭПО «+» vs «рЧЭПО + сцеживание пуповины» (2-я и 3-я группы)	0,59	0,22 (1,54)
рЧЭПО «-» vs «рЧЭПО + сцеживание пуповины» (1-я и 3-я группы)	0,35	0,13 (0,92)

Выявлено, что шансы развития РН ≥ II стадии у детей, которым проводили более двух гемотрансфузий, в 2,6 раза выше, чем у детей, которым проводили менее двух гемотрансфузий ($p < 0,05$). Шансы развития БЛД средней и тяжелой степеней тяжести у детей, которым проводили более двух гемотрансфузий, почти в 3 раза выше, а ПВЛ почти в 5 раз выше, чем у детей, которым проводили менее двух гемотрансфузий ($p < 0,05$) (см. табл. 5). Не наблюдается повышение шансов развития НЭК в зависимости от частоты гемотрансфузий.

При проведении сравнительного анализа влияния терапии ЭПО на развитие РН установлено, что шансы развития РН ≥ II стадии в группах пациентов, получавших и не получавших терапию рЧЭПО, одинаковы: ОШ – 1,0 95% ДИ (0,44; 2,36), что демонстрирует отсутствие воздействия терапии рЧЭПО на развитие РН ≥ II стадии.

В ряде других исследований отмечено, что гемотрансфузии, особенно неоднократные, могут приводить к развитию таких жизнеугрожающих состояний среди недоношенных новорожденных, как ВЖК и НЭК [6, 9, 11, 15]. Анемия у глубоко недоношенных новорожденных, перенесших неоднократные гемотрансфузии, чаще ассоциирована с БЛД, РН и ПВЛ [12, 13]. В исследовании Y.C. Wang et al.

Осложнения и исходы в группах пациентов с различной частотой гемотрансфузий (более и менее двух)

Показатель	Отношение шансов	95% ДИ (CI)
РН ≥ 2 ст. vs РН < 2 ст.	2,6	1,3 (6,4)
НЭК ≥ 2 ст. «+» vs «-»	1,1	0,3 (4,2)
БЛД, средняя и тяжелая стадии «+» vs «-»	2,9	1,29 (7,3)
ПВЛ «+» vs «-»	4,7	1,2 (18,1)

($n = 98$) продемонстрировано, что гемотрансфузии оказывают негативное влияние на выживаемость детей с ЭНМТ, увеличивают риск развития РН и отрицательно влияют на отдаленные неврологические исходы [16].

В нашем исследовании выявлена также взаимосвязь между проведением гемотрансфузии и повышением частоты развития таких состояний, как БЛД, ПВЛ и РН у недоношенных с ОНМТ и ЭНМТ. Выявлены достоверные прямые корреляции между частотой и объемом трансфузий и развитием БЛД ($r = 0,37$; $p < 0,05$ и $r = 0,42$; $p < 0,05$ соответственно), ПВЛ ($r = 0,43$; $p < 0,05$ и $r = 0,48$; $p < 0,05$ соответственно), РН ($r = 0,37$; $p < 0,05$ и $r = 0,39$; $p < 0,05$ соответственно). Развитие РН $\geq$ III стадии, потребовавшей проведения лазерной коагуляции сосудов сетчатки, было связано с более ранним проведением и большим объемом гемотрансфузий ($r = 0,87$; $p < 0,05$). По результатам корреляционного анализа не выявлено взаимосвязи между кратностью и объемом гемотрансфузий и частотой развития НЭК ($r = 0,02$; $p > 0,05$).

Влияние частоты гемотрансфузий на развитие вышеперечисленных исходов выражается в значимом увеличении развития этих состояний при проведении двух и более гемотрансфузий (БЛД – в 2,9 раза, РН – в 2,6 раза и ПВЛ – в 4,7 раза). Ряд исследователей указывает на повышение риска развития НЭК, связанного с проведением трансфузий [15, 17]. Нами не выявлено значимой взаимосвязи между количеством и объемом гемотрансфузий и частотой развития НЭК.

По заключению *R.M. Patel et al.*, тяжелая анемия, а не гемотрансфузия как таковая, связана с повышением риска развития НЭК у недоношенных детей с ОНМТ [18]. Такого же мнения придерживаются *C. Derienzo et al.*: именно тяжелая анемия, требующая проведения гемотрансфузии, ассоциирована с развитием НЭК [19]. Основываясь на полученных результатах, авторы высказывают предположение о возможном повышении порога значения показателя гемоглобина, при котором следует проводить гемотрансфузии, учитывая особенности клинической картины и тяжесть состояния конкретного ребенка. Таким образом, остается актуальным вопрос о необходимости предотвращения развития РАН, требующей проведения гемотрансфузии, как состояния, приводящего к тканевой гипоксии и являющегося потенциальным и значимым фактором риска развития НЭК. Профилактика РАН – первична и клинически более важна, чем стремление к минимизации гемотрансфузий, которые расцениваются как фактор риска развития НЭК и других неблагоприятных состояний [20].

В качестве компонента для гемотрансфузии чаще применяют донорскую кровь взрослых, содержащую гемоглобин взрослого типа – HbA, который имеет меньшую аффинность к кислороду по срав-

нению с фетальным Hb. Это играет определенную роль в повреждающем действии избытка свободного железа и свободных радикалов при гемотрансфузиях и может приводить к развитию и прогрессированию РН и БЛД. В этой связи теоретически более целесообразным при проведении гемотрансфузии представляется использование аллогенной пуповинной крови [21–24].

Применение рестриктивной тактики в отличие от либеральной приводит к меньшей частоте гемотрансфузий, при этом не выявлено статистически значимых отличий в уровне смертности, заболеваемости или отдаленных неврологических исходов среди недоношенных новорожденных, по данным ряда исследований и систематического обзора *Cochrane* [10, 21, 25]. В нескольких мультицентровых исследованиях *H. Kirpalani et al.*, *H.L. Chen et al.*, *P.C. Nopolous et al.* оценивали неврологические исходы у детей 18–21 мес. скорректированного возраста, при этом не было выявлено статистически значимых отличий при применении рестриктивного и либерального протоколов гемотрансфузии [26–28]. По данным *M. Ibrahim et al.*, применение рестриктивной тактики приводит к достоверно значимому снижению частоты гемотрансфузий, при этом смертность не повышается и нет влияния на неонатальные исходы [29]. В нашем исследовании не проводилась оценка отдаленных исходов, в том числе неврологических, что является ограничением данного исследования.

Альтернативный метод лечения РАН – применение препарата рчЭПО, поскольку ведущим патогенетическим механизмом развития анемии является гипорегенераторный характер гемопоэза. В ряде отечественных исследований, посвященных эффективности применения рекомбинантного эритропоэтина, получены данные о положительном влиянии препарата для лечения и профилактики РАН [30–33]. Продолжается дискуссия о положительном влиянии применения рчЭПО при РАН. Несмотря на то что в патогенезе анемии недоношенных уровень эндогенного ЭПО играет ключевую роль, ни назначение рчЭПО, ни сочетанная терапия с препаратами железа, фолиевой кислотой, витамином B_{12} не снижают частоту и общий объем гемотрансфузий, проводимых недоношенным новорожденным [34]. По данным проведенного нами исследования не выявлено также статистически значимой разницы в количестве и объеме гемотрансфузий между группами детей, которые получали и не получали терапию рчЭПО.

Раннее использование рчЭПО по сравнению с поздним снижает частоту гемотрансфузий [35]. В то же время развитие и прогрессирование РН более III стадии при раннем назначении рчЭПО не доказано, этот вопрос широко обсуждается, вызывая серьезную дискуссию. По данным крупного метаанализа,

в который были включены наблюдения за 1999 недоношенными детьми (гестационный возраст < 37 нед., масса тела при рождении < 2500 г), ни раннее назначение рЧЭПО (до 8 с.ж.), ни позднее (с 8 с.ж.) достоверно не приводило к увеличению риска развития и/или прогрессирования РН более III стадии [36].

В нашем исследовании шансы развития РН $\geq$ II стадии в группах пациентов, получавших и не получавших терапию рЧЭПО, не различались, что может указывать на отсутствие влияния терапии рЧЭПО на развитие РН $\geq$ II стадии.

Основное внимание уделяется сегодня мероприятиям, направленным на профилактику РАН, в том числе отсроченному пережатию или сцеживанию («милкинг») пуповины. Отсроченное пережатие пуповины снижает частоту ВЖК, НЭК, потребность в проведении кардиотонической терапии, частоту гемотрансфузий у недоношенных новорожденных с анемией [37]. В систематическом обзоре *J. Chapman et al.* описана эффективность и положительное влияние отсроченного пережатия пуповины у недоношенных новорожденных на снижение частоты развития РАН, гемодинамической нестабильности и ВЖК [38].

В нашем исследовании выявлена достоверная эффективность комбинации мер по профилактике РАН в виде снижения потребности в проведении гемотрансфузионной терапии в 2,8 раза в группе, где применяли в комплексе сцеживание пуповины и терапию препаратами рЧЭПО, по сравнению с группой без проведения терапии рЧЭПО. При анализе эффективности мер по профилактике РАН, проводимых в различные годы, статистически значимая разница в частоте гемотрансфузий была выявлена только между группой, где применяли комбинацию профилактических мероприятий (3-я группа), и группой без профилактики анемии (1-я группа). При этом статистически достоверная эффективность проводимых мероприятий в данных группах была получена исключительно за счет недоношенных новорожденных с ЭНМТ, что указывает на эффективность комбинации профилактических мер именно в этой группе новорожденных. Достоверной эффективности терапии

рЧЭПО и комбинации профилактических мер у детей с ОНМТ нами не выявлено. Отсутствие аналогичных результатов в группе детей с ОНМТ в нашем исследовании может быть обусловлено меньшим количеством детей в данной группе, что требует дальнейших исследований относительно неэффективности и целесообразности проведения терапии рЧЭПО в качестве профилактики РАН у новорожденных с ОНМТ.

ВЫВОДЫ

Трансфузия эритроцитсодержащих компонентов крови повышает риск развития бронхолегочной дисплазии, ретинопатии недоношенных и перивентрикулярной лейкомаляции. Потребность в проведении гемотрансфузий у недоношенных новорожденных с ЭНМТ достоверно снижается при применении комплекса профилактических мер, включающих в себя сочетание отсроченного пережатия пуповины (сцеживания) и последующей терапией эритропозтином. В группе глубоко недоношенных детей, получавших терапию эритропозтином без процедуры сцеживания пуповины, не выявлено статистически значимого снижения частоты проведения гемотрансфузий. Эффективность терапии эритропозтином, время ее старта и различные схемы терапии остаются спорными вопросами, требующими дальнейшего изучения. Вместе с тем установлено, что поздняя терапия эритропозтином (с 8-х суток жизни) не повышает риск развития тяжелых форм ретинопатии недоношенных.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Д.Р. Шарафутдинова <http://orcid.org/0000-0001-9626-5481>

Е.Н. Балашова <http://orcid.org/0000-0002-3741-0770>

С.В. Павлович <http://orcid.org/0000-0002-1313-7079>

А.Р. Кирбитная <http://orcid.org/0000-0002-7628-8157>

О.В. Ионов <http://orcid.org/0000-0002-4153-133x>

Литература

1. World Health Organisation; World Health Statistics. 2015. http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/en/
2. Володин Н.Н. Неонатология: национальное руководство. Краткое издание. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013, с. 548–559.
3. Байбарина Е.Н., Дегтярев Д.Н. Избранные клинические рекомендации по неонатологии. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016, с. 155–167.
4. Carroll P.D. Umbilical cord blood – an untapped resource: strategies to decrease early red blood cell transfusions and improve neonatal outcomes. *Clin Perinatol* 2015; 42 (3): 541–56.
5. Детская гематология. Клинические рекомендации / Под ред. А.Г. Румянцев, А.А. Масчана, Е.В. Жуковской). – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, с. 182–192.
6. Олс Р., Едер М. Гематология, иммунология и инфекционные болезни / Под ред. А.Г. Румянцев (Пер. с англ.). – М.: Лоросфера, 2013, с. 408.
7. Valieva O.A., Strandjord T.P., Mayock D.E., Juul S.E. Effects of transfusions in extremely low birth weight infants: a retrospective study. *J Pediatr* 2009; 155 (3): 331–7.
8. Canadian Paediatric Society. Red blood cell transfusions in newborn infants: Revised guidelines. 2015.
9. Keir A., Pal S., Trivella M., Lieberman L., Callum J., Shehata N., et al. Adverse

- effects of red blood cell transfusions in neonates: a systematic review and meta-analysis. *Transfusion* 2016; 56 (11): 2773–80.
10. Whyte R., Kirpalani H. Low versus high haemoglobin concentration threshold for blood transfusion for preventing morbidity and mortality in very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2011 (11).
 11. Santos A.M., Guinsburg R., Almeida M.F., et al. Factors associated with red blood cell transfusions in very-low-birth-weight preterm infants in Brazilian neonatal units. *Pediatr* 2015; 15: 1–8.
 12. Duan J., Kong X., Li Q., et al. Association between anemia and bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Sci Rep* 2016; 6: 22717.
 13. Hakeem H.A., Mohamed G.B., Othman M.F. Retinopathy of prematurity: A study of prevalence and risk factors. *Middle East Afr J Ophthalmol* 2012; 19 (3): 289–94.
 14. Jobe A.H., Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163 (7): 1723–9.
 15. Christensen R.D. Associations between "early" red blood cell transfusion and severe intraventricular hemorrhage, and between "late" red blood cell transfusion and necrotizing enterocolitis. *Semin Perinatol* 2012; 36 (4): 283–9.
 16. Wang Y.C., Chan O.W., Chiang M.C., Yang P.H., Chu S.M., et al. Red Blood Cell Transfusion and Clinical Outcomes in Extremely Low Birth Weight Preterm Infants. *Pediatr Neonatol* 2017; 58 (3): 216–22.
 17. Mohamed A., Shah P.S. Transfusion associated necrotizing enterocolitis: a meta-analysis of observational data. *Pediatrics* 2012; 129 (3): 529–40.
 18. Patel R.M., Knezevic A., Shenvi N., Hinkes M., Keene S., et al. Association of Red Blood Cell Transfusion, Anemia, and Necrotizing Enterocolitis in Very Low-Birth-Weight Infants. *JAMA* 2016; 315 (9): 889–97.
 19. Derienzo C., Smith P.B., Tanaka D., et al. Feeding practices and other risk factors for developing transfusion-associated necrotizing enterocolitis. *Early Hum Dev* 2014; 90 (5): 237–40.
 20. Klein H.G., Flegel W.A., Natanson C. Red blood cell transfusion: precision vs imprecision medicine. *JAMA* 2015; 314 (15): 1557–8.
 21. Venkatesh V., Khan R., Curley A., Hopewell S., Doree C., et al. The safety and efficacy of red cell transfusions in neonates: a systematic review of randomized controlled trials. *Br J Haematol* 2012; 158: 370–85.
 22. Martin R.J., Di Fiore J.M., Walsh M.C. Hypoxic Episodes in Bronchopulmonary Dysplasia. *Clin Perinatol* 2015; 42: 825–38.
 23. Титков К.В. Оптимизация интенсивной терапии новорожденных детей с пороками развития в послеоперационном периоде путем трансфузии аутологичной эритроцитарной массы из пуповинной крови / Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – М., Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 2016.
 24. Bianchi M., Giannantonio C., Spartano S., et al. Allogeneic umbilical cord blood red cell concentrates: an innovative blood product for transfusion therapy of preterm infants. *Neonatology* 2015; 107 (2): 81–6.
 25. Franz A.R., Maier R.F., Thome U.H., Rüdiger M., Kron M., et al. The 'Effects of Transfusion Thresholds on Neurocognitive Outcome of Extremely Low Birth-Weight Infants (ETTNO)' Study: Background, Aims, and Study Protocol. *Neonatology* 2012; 101 (4): 301–5.
 26. Kirpalani H., Whyte R.K., Andersen C., et al. The Premature Infants in Need of Transfusion (PINT) study: a randomized controlled trial of a restrictive (low) versus liberal (high) transfusion threshold for extreme low birth weight infants. *J Pediatr* 2006; 149: 301–7.
 27. Chen H.L., Tseng H.I., Lu C.C., Yang S.N., Fan H.C., et al. Effect of blood transfusions on the outcome of very low body weight preterm infants under two different transfusion criteria. *Pediatr Neonatol* 2009; 50 (3): 110–6.
 28. Nopoulos P.C., Conrad A.L., Bell E.F., Strauss R.G., Widness J.A., et al. Long-term Outcome of Brain Structure in Premature Infants: Effects of Liberal vs Restricted Red Blood Cell Transfusions. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2011; 165 (5): 443–50.
 29. Ibrahim M., Ho S.K., Yeo C.L. Restrictive versus liberal red blood cell transfusion thresholds in very low birth weight infants: a systematic review and meta-analysis. *J Paediatr Child Health* 2014; 50 (2): 122–30.
 30. Борисова И.П., Дмитриев А.В., Морщакова Е.Ф. Ранняя анемия недоношенных: профилактика и лечение. *Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2004; 3 (1): 27–31.
 31. Новиков А.В., Морщакова Е.Ф., Дмитриев А.В. и др. Эритропоэтин в комплексном лечении и профилактике анемии у детей при критических состояниях неонатального периода. *Вопросы практической педиатрии* 2006; 1 (4): 43.
 32. Пилипенко Ю.Н., Дмитриев А.В., Морщакова Е.Ф. Сравнительная эффективность применения различных доз рекомбинантного человеческого эритропоэтина в профилактике и лечении ранней анемии недоношенных. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова* 2008; 4: 97–103.
 33. Демихов В.Г., Дмитриев А.В., Шокер О.А., Демихова Е.В. Ранняя анемия недоношенных: оптимизация стратегии терапии. *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2015; 1: 81–87.
 34. Crowley M., Kirpalani H. A rational approach to red blood cell transfusion in the neonatal ICU. *Curr Opin Pediatr* 2010; 22 (2): 151–7.
 35. Ohlsson A., Aher S.M. Early erythropoietin for preventing red blood cell transfusion in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; 26: 4.
 36. Chou H., Chou H., Chung M., Zhou X., Lin H. Early Erythropoietin Administration does not Increase the Risk of Retinopathy in Preterm Infants. *Pediatr and Neonatol* 2017; 58 (1): 48–56.
 37. Safarulla A. A Review of Benefits of Cord Milking over Delayed Cord Clamping in the preterm infant and future directions of research. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 2017; 30: 1–11.
 38. Chapman J., Marfurt S., Reid J. Effectiveness of Delayed Cord Clamping in Reducing Postdelivery Complications in Preterm Infants: A Systematic Review. *J Perinat Neonatal Nurs* 2016; 30 (4): 372–8.

Изменение экспрессии CD19 опухолевыми клетками при применении блинатумомаба у детей с рецидивами и рефрактерным течением В-линейного острого лимфобластного лейкоза

Е.В. Глуханюк, О.И. Илларионова, С.А. Кашпор, С.А. Плясунова, Н.В. Мякова, А.А. Масчан, А.М. Попов

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

Блинатумомаб представляет собой биспецифическое анти-CD3-анти-CD19-антитело, которое способно рекрутировать собственные Т-клетки пациента против В-клеток, экспрессирующих CD19, опосредуя их лизис. Один из значимых механизмов приобретенной резистентности к препарату – снижение экспрессии CD19 опухолевыми клетками вплоть до полной потери данного пан-В-линейного антигена. Целью работы была оценка изменения экспрессии CD19 у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) на остаточных опухолевых клетках или опухолевых клетках при рецидиве после лечения блинатумомабом. В исследование были включены 39 пациентов с рефрактерными формами или рецидивом В-линейного ОЛЛ, которые получали блинатумомаб. Минимальную остаточную болезнь (МОБ) определяли методом 8-цветной проточной цитометрии. Исследование показало, что снижение экспрессии CD19 на опухолевых клетках – одна из основных причин неудач CD19-направленной терапии. В то же время изменения экспрессии CD19 могут быть обратимыми: «CD19-негативная МОБ» не всегда была ассоциирована с отсутствием CD19 на опухолевых клетках при последующем рецидиве. В двух случаях диагностировали так называемое переключение линий и развитие ОМЛ в результате CD19-направленной терапии, причем оно происходило различными путями и зависело от биологических свойств опухоли. Снижение экспрессии CD19 приводило к необходимости использовать для мониторинга МОБ 10–12-цветную проточную цитометрию с расширенной панелью моноклональных антител к различным В-линейным и опухолево-ассоциированным антигенам.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, блинатумомаб, CD19, минимальная остаточная болезнь.

Контактная информация:

Попов Александр Михайлович, канд. мед. наук, заведующий лабораторией клеточной иммунологии и иммуногенеза НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.

Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1
Тел.: 8 (495) 287-6570

E-mail: uralcytometry@gmail.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-4-21-26

Changes in CD19 expression after blinatumomab treatment in pediatric patients with relapsed/refractory B-lineage acute lymphoblastic leukemia

E.V. Gluhanyuk, O.I. Illarionova, S.A. Kashpor, S.A. Plyasunova, N.V. Miakova, A.A. Maschan, A.M. Popov

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

Blinatumomab is a bispecific T-cell engager (BiTE) antibody construct targeting CD3 and CD19, resulting in T-cell-mediated lysis of malignant B cells. CD19 downexpression is shown to be one of the possible mechanisms of tumor cells adaptation and subsequent escape from treatment. The aim of the present study was to evaluate changes of CD19 expression on residual tumor cells in children with BCP-ALL treated with blinatumomab. 39 patients with relapsed/refractory BCP-ALL who completed at least one course of blinatumomab, were studied. MRD monitoring was performed by 8-color flow cytometry. In those children, who didn't respond and/or developed subsequent relapse, CD19 downexpression seems to be one of the significant pathways for tumor escape from blinatumomab – 50% of relapses were CD19-negative, and in 26.3% of all relapsed/resistant cases CD19-negative blasts were detected at least on MRD level. Rather frequent loss of CD19 could be a serious obstacle for flow cytometric MRD monitoring, but application of expanded antibodies panel and use of 10–12-color investigation allows residual blasts detection in nearly all cases.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, blinatumomab, CD19, minimal residual disease.

Correspondence:

Alexander M. Popov, MD, PhD, Head of Cell immunology and immunogenesis laboratory, Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation.

Address: Russia 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
Phone: +7 (495) 287-6570
E-mail: uralcytometry@gmail.com

Блинатумомаб представляет собой биспецифическое антитело, состоящее из двух одноцепочечных вариабельных фрагментов моноклональных антител против CD19 и ϵ -цепи CD3, которое способно рекрутировать Т-клетки пациента против опухолевых В-клеток, опосредуя их лизис [1]. В настоящее время препарат используется главным образом для лечения рефрактерных форм и рецидивов острого лимфобластного лейкоза из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ). Несмотря на обнадеживающие результаты – достижение полной или частичной ремиссии примерно у половины больных (56% – для взрослой когорты больных [2], 45% – для детской [3]), у существенной части пациентов происходят рецидивы или развивается рефрактерность к проводимой терапии. Один из значимых механизмов приобретенной резистентности к препарату – снижение экспрессии CD19 опухолевыми клетками вплоть до полной потери данного пан-В-линейного антигена [4]. Кроме того, потеря экспрессии CD19 значительно усложняет мониторинг минимальной остаточной болезни (МОБ), который необходим для контроля эффективности лечения [5].

Целью нашей работы была оценка изменения экспрессии CD19 у детей с ВП-ОЛЛ на остаточных опухолевых клетках или опухолевых клетках при рецидиве после лечения блинатумомабом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование, проводившееся с декабря 2015 по сентябрь 2017 года, были включены 39 пациентов (19 девочек и 20 мальчиков) с рефрактерной формой или рецидивом ВП-ОЛЛ, которые получали блинатумомаб в рамках противорецидивной терапии в качестве «мостика» к трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Медиана возраста составила 8 лет (от 6 мес. до 21 года). У 5 (12,8%) пациентов были обнаружены различные аберрации в гене *KMT2A*, у 3 (7,7%) – транскрипт *ETV6-RUNX1*. Всем пациентам после одного или двух курсов блинатумомаба, преимущественно при наличии МОБ-негативной ремиссии, выполняли аллогенную ТГСК.

МОБ определяли в образцах костного мозга (КМ) в течение 5 часов с момента забора. Иммунофенотипирование опухолевых клеток в костном мозге производили методом 8-цветной проточной цитометрии на приборе *FACS Canto II* (*Becton & Dickinson* (BD), США). Настройку проточного цитометра проводили с использованием калибровочной системы *Comp Beads* (BD, США). Мониторинг стабильности работы прибора выполняли при помощи частиц *Cytometer Setup and Tracking* (BD, США). Использовались моноклональные антитела (МкАТ), меченные флуоресцеинизотиоцианатом (FITC), R-фикоэритрином (PE),

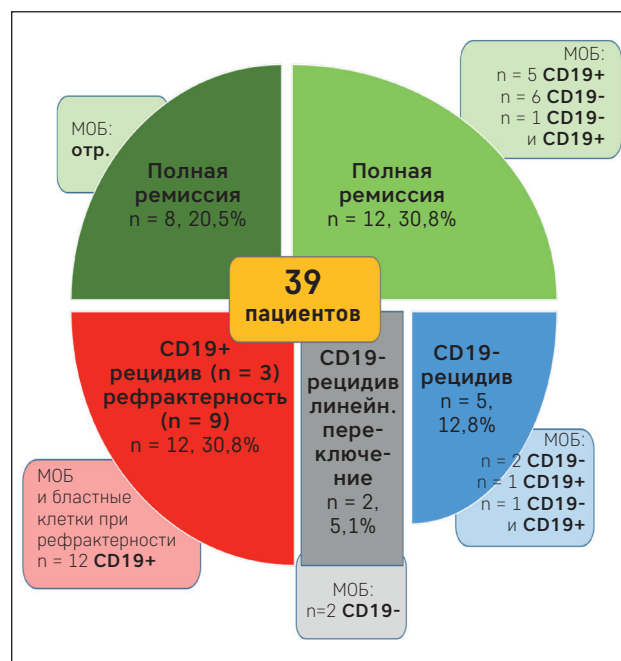
перидининхлорофилл-протеином (PerCP), аллофикоцианином (APC), красителями BV421 и BV510, а также тандемными конъюгатами PE с цианином 7 (Cy7), PerCP с цианином 5,5 (Cy5,5) и APC с Cy7 и AlexaFluor750. Для определения МОБ применяли моноклональные антитела к антигенам CD58 (AICD58-FITC, *Beckman Coulter* (BC), США), CD10 (HI10a-PE или HI10a-BV421, оба BD), CD45 (J33-APC-AlexaFluor750, BC), CD34 (8G12-PE-Cy7 или 8G12-APC, оба BD), CD20 (L27-PerCP, BD), CD19 (SJ25C1-APC, BD, или J3-119-PE-Cy7, BC) и CD38 (HIT2-BV510, BD). Окрашивание первично мечеными моноклональными антителами производилось согласно инструкции производителя. После инкубации суспензии костномозговых клеток с моноклональными антителами взвесь обрабатывали лизирующим раствором (*FACS Lysing solution*, BD), а затем отмывали фосфатно-солевым буфером (*Cell Wash*, BD). При определении МОБ применяли подход, описанный ранее [6], основанный на рекомендациях группы AIEOP-BFM [7]. После применения блинатумомаба для выделения В-клеток использовали дополнительные антитела к CD22 (HIB22-PE, BD) и CD24 (ML-5-BV510, BD) согласно рекомендациям, изложенным в работе *Cherian, et al.* [5], для снижения вероятности получения ложнонегативных результатов при анализе и интерпретации результатов иммунофенотипирования в случае потери CD19. Результат рассчитывали в виде процентного содержания опухолевых клеток среди всех ядросодержащих клеток костного мозга, которые определяли путем окраски ДНК-тропным красителем Syto 41 (*Thermo Fisher Scientific*, США). Образцы КМ считали МОБ-положительными при величине МОБ > 0,001%. Опухолевая популяция при диагностике рецидива и определении МОБ считалась CD19-положительной, если более 80% лейкоэмических бластов экспрессировали данный антиген.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полной клинико-гематологической ремиссии (ПР) достигли 27 (69,2%) из 39 пациентов. У 20 (51,3%) из 39 пациентов, включенных в исследование, удалось добиться продолжительной ПР (медиана длительности – 173 дня от завершения курса блинатумомаба) (рис. 1), при этом у 8 пациентов, достигших ПР, МОБ не обнаруживали ни после первого, ни после последующих курсов блинатумомаба, они были исключены из дальнейшего анализа. У остальных 12 пациентов МОБ выявляли по крайней мере однократно: у 5 пациентов бластная популяция всегда оставалась CD19-положительной, в 6 случаях хотя бы раз выявлялась CD19-негативная МОБ, а в одном случае в разное время у пациента детектировались как CD19-положительные, так и CD19-негативные резидуальные опухолевые клетки.

Рисунок 1

Группы пациентов в зависимости от исхода терапии и предшествующая МОБ с указанием ее иммунофенотипических характеристик (CD19+ или CD19-)



Из 39 пациентов 19 (48,7%) были либо резистентны к проводимой терапии (n = 9), либо развили костномозговой рецидив после окончания курса блинатумомаба (n = 10). Во всех случаях резистентности к блинатумомабу (9 пациентов) и в 3 случаях рецидива бластные (и предшествующие рецидиву резидуальные) клетки были CD19-позитивными. У 5 пациентов наблюдалось развитие CD19-негативного рецидива (рис. 2). Таким образом, частота развития CD19-негативного рецидива составила 50% всех случаев рецидива (5 из 10 случаев) и 26,3% всех случаев неудач (5 из 19). У двух пациентов с CD19-негативным рецидивом еще до его развития определялась МОБ с CD19-негативными бластными клетками; в одном случае у пациента в различное время детектировались как CD19-позитивные, так и CD19-негативные опухолевые клетки.

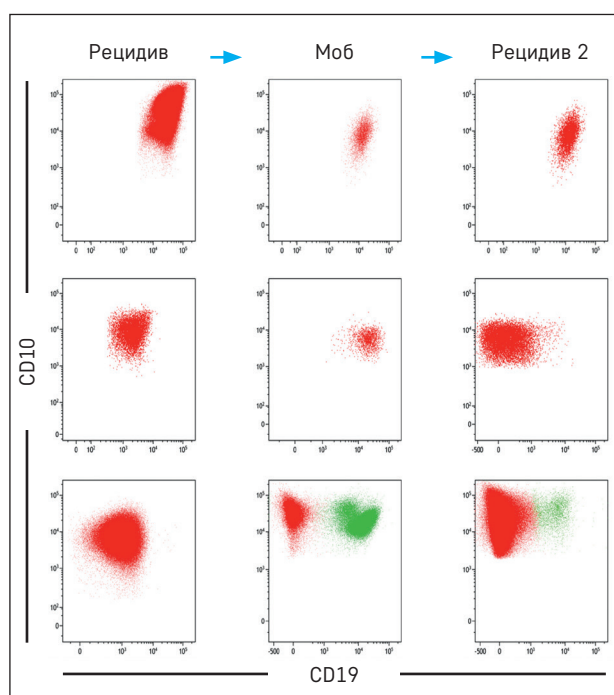
У двух пациентов с CD19-негативной МОБ зафиксирован рецидив по типу линейного переключения – с ВП-ОЛЛ на острый миелоидный лейкоз (ОМЛ). Вероятно, такое переключение может происходить по разным причинам. Так, у одного пациента была обнаружена абберация, приводящая к образованию транскрипта KMT2A-AFF1, для которого характерно линейное переключение, путем репрограммирования бластной популяции с лимфобластным фенотипом на миелоидный (рис. 3 А) [8, 9]. Во втором случае в костном мозге, по данным инициального иммунофенотипирования, выявлена минорная миелоидная бластная популяция, которая затем стала источником развернутого рецидива (рис. 3 Б).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

По механизму своего действия блинатумомаб – таргетный препарат, его применение является мощным селектирующим фактором для клеток, не экспрессирующих CD19. Данные, полученные в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, указывают на то, что потеря экспрессии CD19 бластными клетками не оказывает существенного влияния на их способности к выживанию и пролиферации [10]. Применение блинатумомаба может быть причиной снижения экспрессии или полной потери CD19, что является важнейшим механизмом «ускользания» от терапии блинатумомабом и ведет к возможности развития CD19-негативного рецидива. Описано несколько механизмов развития таких рецидивов (рис. 4): позитивная селекция предсуществующего CD19-негативного клона с последующей его экспансией; синтез дефектного рецептора CD19 с потерей таргетного (для «анти-CD19» части блинатумомаба) эпитопа в результате альтернативного сплайсинга мРНК CD19 [11]; нарушение механизма транспорта рецептора CD19 на поверхность клетки по причине дефицита CD81 – важного фактора созревания корцепторного комплекса CD19/CD21/CD81/CD225 [12].

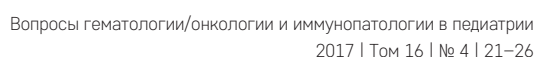
Рисунок 2

Экспрессия CD19 при диагностике рецидива и развитии второго рецидива после применения блинатумомаба: экспрессия CD19 у части пациентов сохранялась (верхний ряд); у других пациентов развивался CD19-негативный рецидив вне зависимости от того, определялась CD19-позитивная (средний ряд) или CD19-негативная (нижний ряд) МОБ (опухолевые клетки показаны красным, нормальные В-линейные предшественники – зеленым)



В настоящем исследовании использование блинатуломаба позволило достичь ремиссии примерно в половине случаев (52,5%), что в целом соответствует результатам исследований на взрослой и детской когортах больных [2, 3]. Следует отметить, что мониторинг МОБ методом проточной цитометрии позволил выделить особую группу больных, сохранявших

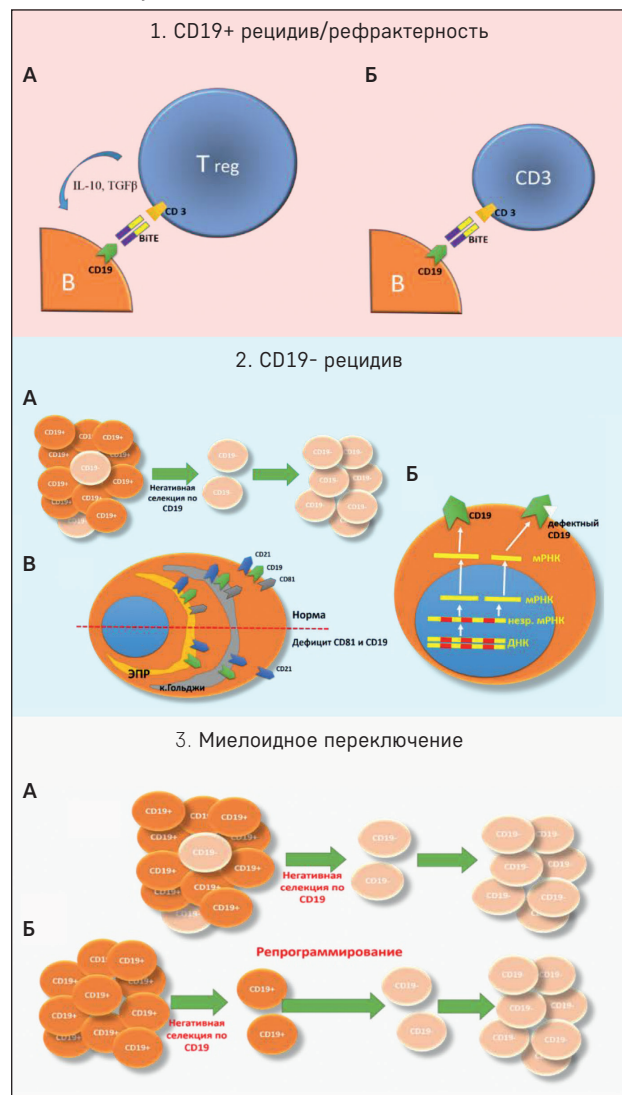
Хотя феномен переключения линий описан достаточно давно, частота таких сообщений существенно возросла после начала широкого использования CD19-направленной терапии [16]. Основные механизмы этого переключения – селекция предсуществующей миелоидной популяции на фоне элиминации лимфоидной составляющей опухолевого клона и репрограммирование лейкоэмических клеток



при остром лейкозе (ОЛ), происходящих из наиболее ранних гемопоэтических предшественников [17, 18]. Первый путь наиболее характерен для случаев ОЛ со смешанным фенотипом (ОЛСФ), в том числе и при исходном доминировании лимфобластной составляющей. Репрограммирование бластов чаще встреча-

Рисунок 4

Механизмы развития рефрактерности и рецидивов при применении блинатумаба



1. Механизмы развития CD19-положительного рецидива и рефрактерности: **А** – избыточный уровень Т-регуляторных лимфоцитов в CD3+ фракции лимфоцитов [13]; **Б** – недостаточная активация и экспансия CD3+ цитотоксических популяций [14, 15].

2. Механизмы развития CD19-негативного рецидива: **А** – позитивная селекция предсуществующей минорной CD19-негативной субпопуляции бластных клеток; **Б** – синтез дефектного CD19 с потерей таргетного эпитопа в результате альтернативного сплайсинга мРНК [11]; **В** – нарушение транспорта CD19 на клеточную поверхность вследствие дефицита CD81 [12].

3. Механизмы развития рецидива по типу миелоидного переключения: **А** – первично смешанные опухоли; рецидивы в результате положительной селекции предсуществующих миелоидных клонов [16]; **Б** – рецидивы, клонально связанные с первичной опухолью, – рецидивы в результате репрограммирования [16, 17].

ется при ОЛ, ассоциированном с перестройками гена *KMT2A*. Данная генетическая aberrация приводит к образованию ОЛ со специфическими биологическими свойствами, имеющего общие черты как с ОЛЛ, так и с ОМЛ [8]. Большинство описанных случаев переключения линий происходили как раз при наличии перестроек региона 11q23. Применение CD19-ориентированных препаратов у этих пациентов становится определенным стимулом для опухолевых клеток к реализации дифференцировки в сторону не только ОЛЛ, но и ОМЛ. Интересно отметить, что в нашем исследовании два пациента с переключением линий ОЛ продемонстрировали оба возможных пути такого изменения иммунофенотипа.

Снижение экспрессии CD19 вплоть до полной потери данного антигена также существенно осложняет мониторинг МОБ при ВП-ОЛЛ методом проточной цитометрии. Выявление опухолевых бластов у таких пациентов обычно начинается с выделения всех CD19-положительных клеток с последующим анализом их иммунофенотипа [6, 7]. При появлении CD19-негативных бластов они не попадают в исходно выделенные В-клетки, что приводит к ложноотрицательным результатам [5]. Поскольку результаты определения МОБ являются как одним из главных показателей к назначению анти-CD19 терапии, так и основным методом контроля эффективности применения блинатумаба, точность и воспроизводимость иммунофенотипирования крайне важны. *S. Cherian, et al.* предложили расширить панель антител для мониторинга МОБ путем добавления маркеров CD22 и CD24, что позволило точнее выделять все В-клетки, включая CD19-негативные бласты [5]. Однако такой подход нельзя признать универсальным. При ВП-ОЛЛ, ассоциированном с перестройками гена *KMT2A*, экспрессия обоих антигенов часто существенно снижена [19]. В то же время при ОЛЛ с *KMT2A*-перестройками блинатумомаб применяется достаточно часто, поскольку данная генетическая aberrация ассоциирована с высоким риском рецидива и рефрактерности к противоопухолевой терапии [9]. В целом снижение экспрессии CD19 под действием блинатумаба определяет необходимость применения для мониторинга МОБ широкой панели антител в 10–12-цветных комбинациях.

ВЫВОДЫ

Снижение экспрессии CD19 на опухолевых клетках – одна из основных причин неудач CD19-направленной терапии. Изменения экспрессии CD19 могут быть обратимыми: CD19-негативная МОБ не всегда ассоциирована с отсутствием CD19 на опухолевых клетках при последующем рецидиве. Переключение линий и развитие ОМЛ в результате CD19-направлен-

ной терапии могут происходить различными путями в зависимости от биологических свойств опухоли. Снижение экспрессии CD19 приводит к необходимости использования для мониторинга МОБ 10–12-цветной проточной цитометрии с расширенной панелью моноклональных антител к различным В-линейным и опухолево-ассоциированным антигенам.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Е.В. Глуханюк <http://orcid.org/0000-0003-2921-9770>

Н.В. Мякова <http://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

А.А. Масчан <http://orcid.org/0000-0002-0016-6698>

А.М. Попов <http://orcid.org/0000-0002-0889-6986>

Литература

- Zugmaier G., Klinger M., Schmidt M., Subklewe M. Клинический обзор анти-CD19 BiTE® и ex vivo данных об анти-CD33 BiTE® в качестве примеров ретаргетирования Т-клеток при гематологических опухолях. 2016; 67: 58–66.
- Kantarjian H.M., Stein A.S., Bargou R.C., et al. Blinatumomab Treatment of Older Adults With Relapsed/Refractory B-Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia: Results From 2 Phase 2 Studies. *Cancer* 2016; 122 (14): 2178–85.
- Stackelberg A. Von., Locatelli F., Zugmaier G., et al. Phase I/Phase II Study of Blinatumomab in Pediatric Patients With Relapsed/Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol* 2016; 34 (36): 4381–9.
- Ruella M., Maus M.V. Catch me if you can: Leukemia Escape after CD19-Directed T Cell Immunotherapies. *Comput Struct Biotechnol J* 2016; 14: 357–62.
- Cherian S., Miller V., McCullough V., Fromm J.R., et al. A novel flow cytometric assay for detection of residual disease in patients with B-lymphoblastic leukemia/lymphoma post anti-CD19 therapy. *Cytom Part B Clin Cytom* 2016.
- Попов А.М., Белевцев М.В., Боякова Е.В., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Л.В., Фадеева М.С. Стандартизация определения минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом. Опыт работы российско-белорусской кооперативной группы. *Онкогематология* 2016; 11: 64–73.
- Dworzak M.N., Gaipa G., Ratei R., et al. Standardization of Flow Cytometric Minimal Residual Disease Evaluation in Acute Lymphoblastic Leukemia: Multicentric Assessment Is Feasible. *Cytom Part B (Clinical Cytom)* 2008; 340: 331–40.
- Haddox C.L., Mangaonkar A.A., Chen D., Shi M., He R. Blinatumomab-induced lineage switch of B-ALL with t(4; 11) (q21; q23) KMT2A/AFF1 into an aggressive AML: pre- and post-switch phenotypic, cytogenetic and molecular analysis. *Blood Cancer J* 2017.
- Winters A.C., Bernt K.M. MLL-Rearranged Leukemias – An Update on Science and Clinical Approaches. *Front Pediatr* 2017; 5: 11–3.
- Weiland J., Pal D., Case M., et al. BCP-ALL blasts are not dependent on CD19 expression for leukaemic maintenance. *Leukemia* 2016; 30 (9): 1920–3.
- Fischer J., Paret C., Malki E., et al. CD19 Isoforms Enabling Resistance to CART-19 Immunotherapy Are Expressed in B-ALL Patients at Initial Diagnosis 2017; 40 (5): 187–95.
- Braig F., Brandt A., Goebeler M., et al. Resistance to anti-CD19/CD3 BiTE in acute lymphoblastic leukemia may be mediated by disrupted CD19 membrane trafficking. *Blood* 2016.
- Duell J., Dittrich M., Bedke T., et al. Frequency of regulatory T cells determines the outcome of the T-cell-engaging antibody blinatumomab in patients with B-precursor ALL. *Leukemia* 2017; (September 2016): 1–10.
- Nägele V., Kratzer A., Zugmaier G., et al. Changes in clinical laboratory parameters and pharmacodynamic markers in response to blinatumomab treatment of patients with relapsed/refractory ALL. *Exp Hematol Oncol* 2017; 6 (1): 14.
- Zugmaier G., Gukbuget N., Klinger M., et al. Long-term survival and T-cell kinetics in relapsed/refractory ALL patients who achieved MRD response after blinatumomab treatment. *Blood* 2015; 126 (24): 2578–84.
- Rayes A., Mcmasters R.L., O'Brien M.M. Lineage Switch in MLL-Rearranged Infant Leukemia Following CD19-Directed Therapy. *Pediatr Blood Cancer* 2016; 63 (6): 1113–5.
- Gardner R., Wu D., Cherian S., et al. Acquisition of a CD19-negative myeloid phenotype allows immune escape of MLL-rearranged B-ALL from CD19 CAR-T-cell therapy. *Blood* 2016; 127 (20): 2406–10.
- Jacoby E., Nguyen S.M., Fountaine T.J., et al. CD19 CAR immune pressure induces B-precursor acute lymphoblastic leukaemia lineage switch exposing inherent leukaemic plasticity. *Nat Commun* 2016; 7: 12320.
- De Zen L., Bicciato S., Kronnie G., Basso G. Computational analysis of flow-cytometry antigen expression profiles in childhood acute lymphoblastic leukemia: an MLL/AF4 identification 2003; (October 2002): 1557–65.

Клинико-лабораторные особенности пациентов с аутоиммунным лимфопролиферативным синдромом

О.А. Шве́ц, Е.В. Дерипапа, В.В. Захарова, Д.С. Абрамов, Е.А. Деордиева, Е.А. Викторова, И.Н. Абрамова, Ю.А. Родина, О.А. Шрагина, Д.Д. Байдильдина, И.И. Калинина, У.Н. Петрова, Е.В. Райкина, Д.М. Коновалов, А.В. Пшонкин, М.А. Масчан, А.Ю. Щербина

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

Аутоиммунный лимфопролиферативный синдром (АЛПС) характеризуется нарушением лимфоцитарного гомеостаза вследствие дефекта Fas-опосредованного апоптоза с развитием лимфопролиферативного синдрома, аутоиммунных проявлений, повышением дубль-негативных α/β^+ -Т-клеток (ДНТ) и концентрации витамина В12 в сыворотке крови, гипергаммаглобулинемией. В данном исследовании обследованы 22 пациента с диагнозом "АЛПС", а также восемь бессимптомных родственников пациентов – носителей соответствующих мутаций. Тринадцать пациентов имели разнообразные мутации гена *Fas*; двое – одинаковую мутацию *Casp10*; у семи пациентов причинных мутаций не выявлено. Симптомы заболевания чаще включали сочетание гемопатии и лимфопролиферативного синдрома ($n = 17$); повышение биомаркеров: ДНТ (медиана – 8,9%) – у 19 пациентов, инициальное содержание В12 более 1500 нг/мл – у 13 пациентов, его концентрация коррелировала также со степенью тяжести заболевания, в большей степени – с лимфопролиферацией, что может быть использовано как критерий тяжести заболевания. В связи с гетерогенностью проявлений АЛПС при обследовании пациентов и их родственников, помимо стандартных критериев, важна молекулярно-генетическая диагностика.

Ключевые слова: аутоиммунный лимфопролиферативный синдром, цитопении, лимфопролиферация, витамин В12, дубль-негативные α/β^+ -Т-клетки, *Fas*.

Контактная информация:

Швец Оксана Анатольевна, врач аллерголог-иммунолог отделения стационара кратковременного лечения НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.

Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1
Тел.: 8 (495) 287-6570, доб. 1172
E-mail: shv18081979@gmail.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-4-27-34

Clinical and laboratory characteristics of a group of patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome

O.A. Shvetz, E.V. Deripapa, V.V. Zakharova, D.S. Abramov, E.A. Deordieva, E.A. Victorova, I.N. Abramova, Yu. A. Rodina, O.A. Shragina, D.D. Baidildina, I.I. Kalinina, Y.N. Petrova, E.V. Raikina, D.M. Konovalov, A.V. Pshonkin, M.A. Machan, A.Yu. Shcherbina

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

Autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS) is characterized by abnormal lymphocyte homeostasis due to the defect of Fas-mediated apoptosis. Symptoms include lymphoproliferation, autoimmune complications, increased double-negative α/β^+ -T cells (DNT) and vitamin B12 concentration and hypergammaglobulinemia. The study group included 22 patients with ALPS, and eight symptoms-free relatives who carried respective mutations. Thirteen patients had various *Fas* gene mutations, two – the same mutation of *Casp10*, in seven patients genetic defect has not been found. Symptoms included combination of cytopenia and lymphoproliferation ($n = 17$), increased biomarkers: high DNT ($Me = 8.9\%$) were found in 19 patients, high B12 levels – in 13 patients. B12 level correlated with disease severity, predominantly with lymphoproliferation, which can be used as a marker of disease severity. Due to the heterogeneous nature of ALPS symptoms molecular genetic test play an important role in diagnostic testing of the patients and their relatives.

Key words: autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS), cytopenia, lymphoproliferation, vitamin B12, double-negative α/β^+ -T cells (DNT), *Fas*.

Аутоиммунный лимфопролиферативный синдром (АЛПС) – первичное иммунодефицитное состояние (ПИДС), относящееся к группе синдромов дисрегуляции [1, 2]. В основе патогенеза АЛПС лежит нарушение Fas-опосредованного апоптоза [3]. Согласно данным литературы, большинство пациентов с АЛПС имеет герминальные [4] или соматические гетерозиготные мутации в гене *Fas* [5, 6], или комбинацию герминальных и соматических мутаций [7]. Единичные случаи с гомозиготными мутациями гена *Fas* ассоциируются с более

тяжелым течением заболевания [8]. У небольшого количества пациентов с АЛПС описаны мутации в генах *Fas*-лиганда (*FasL*), каспазы 10 (*Casp10*) и каспазы 8 (*Casp8*), однако у 20–30% больных не выявлен генетический дефект [6, 9, 10].

Возможные проявления АЛПС: диффузная незлокачественная лимфоаденопатия, гепатоспленомегалия, аутоиммунные цитопении (анемия, тромбоцитопения, нейтропения) и другие аутоиммунные проявления в сочетании с гипергаммаглобулинемией, повышением дубль-негативных α/β^+ -Т-клеток (ДНТ),

Correspondence:

O.A. Shvetz, MD, pediatrician allergologist/immunologist, outpatient department Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russian Federation.
Address: Russia 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
Tel.: +7 (495) 287-6570, доб. 1172
E-mail: shv18081979@gmail.com

повышенная частота развития лимфом [11].

В данной статье мы суммируем клинические и лабораторные характеристики группы педиатрических пациентов с АЛПС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование, проведенное на базе НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России с декабря 2011 по август 2017 года, были включены 22 пациента из 20 семей. В случае подтвержденного генетического дефекта, характерного для АЛПС, обследовали родственников первой линии. В результате в исследование включили также 8 родственников наших пациентов – носителей генетического дефекта, у которых на момент исследования не было клинико-лабораторных проявлений АЛПС. Диагноз «АЛПС» ставили на основании диагностических критериев, разработанных ESID (*European Society for Immunodeficiencies* – ESID) [12, 13]. Пациентов, отвечающих части критериев «АЛПС», у которых были выявлены патогенные мутации генов, не соответствующие диагнозу АЛПС (например, KRAS, PIK3CD и др.), в данное исследование не включали.

Аутоиммунный генез цитопений определяли при выявлении аутоантител, в том числе положительной пробы Кумбса, а также при наличии положительного гематологического ответа на проводимую иммуносупрессивную терапию в анамнезе. Все участники исследования подписывали информированное согласие.

Оценка клинических проявлений. Проанализированы следующие показатели: возраст начала клинических проявлений, возраст постановки диагноза, наследственный анамнез, выраженность аутоиммунных проявлений и лимфопролиферативного синдрома, режим лечения. Лимфопролиферативный синдром оценивали в динамике посредством медицинского осмотра, компьютерной томографии и ультразвукового исследования. Степень его выраженности определялась суммой баллов за каждый признак (размеры лимфатических узлов, печени, селезенки)

(табл. 1). Выраженность цитопений также оценивалась как сумма баллов по отдельным признакам: ретикулоцитоз, анемия, тромбоцитопения, нейтропения (табл. 1). Тяжелое течение болезни констатировали, если пациент в начале заболевания имел какую-либо цитопению максимальной степени выраженности (3–4 балла).

Лабораторные исследования. Оценивали стандартные гематологические показатели. Сывороточные иммуноглобулины (IgA, IgM, IgG, IgE) и концентрацию витамина B12 определяли иммуноферментным методом. Оценку популяций лимфоцитов, включая ДНТ, проводили с помощью методов стандартной проточной цитометрии.

Молекулярно-генетический анализ. Геномная ДНК была выделена из образцов цельной крови с использованием набора реагентов «ДНК-сорб В» (ИнтерЛабСервис, РФ) согласно инструкции производителя. Для выявления мутаций в генах *Fas*, *FasL*, *Casp8*, *Casp10* применяли метод прямого секвенирования по Сенгеру. Программы ПЦР и праймеры могут быть предоставлены по запросу. Анализ полученных данных проводили с использованием программного обеспечения *Variant Reporter v2.0* и *Sequencing Analysis v6.0*. При анализе найденных вариантов в качестве референса использовали следующие версии транскрипта: для *Fas* – ENST00000355740; для *FasL* – ENST00000367721; для *Casp8* – ENST00000358485; для *Casp10* – ENST00000286186, версия генома GRCh38.p10. Найденные генетические варианты названы в соответствии с номенклатурой, принятой HGVS (*Human Genome Variation Society*).

Гистопатологическое и иммуногистохимическое исследование. Биопсия ткани лимфатического узла была выполнена 10 пациентам. Патогистологическое исследование проводили с использованием рутинных гистохимических окрасок гематоксилином и эозином. Во всех случаях проведено иммуногистохимическое исследование с антителами против CD20, Pax5, CD3, CD4, CD8, TdT, Ki67, LMO2, CD10, CD79a, CD34, EBV, *in situ* гибридизация методом FISH с зондом EBER.

Таблица 1

Балльная оценка клинических проявлений

Синдром	Симптом/показатель	Балл				
		0	1	2	3	4
Лимфопролиферация	Гепатомегалия, см из-под края реберной дуги	Нет	≤ 3	3–5	5–10	> 10
	Спленомегалия, см из-под края реберной дуги	Нет	≤ 3	3–5	5–10	> 10
	Лимфоаденопатия, см (не менее 3 групп л/у)	Нет	≤ 2	2–4	> 4	
Гемопатия	Гемоглобин, г/л	Нет	90–110	70–90	50–70	< 50
	Ретикулоциты, ‰	Нет	13–30	30–50	50–100	> 100
	Тромбоциты, тыс/мкл	Нет	100–150	50–100	20–50	< 20
	Нейтрофилы, кл/мкл	Нет	1000–1500	500–1000	< 500	

Статистическая обработка данных проведена с использованием программного обеспечения XLSTAT, Addinsoft, 2015. При обработке данных в группе пациентов и проверке статистических гипотез о связи клинических признаков с содержанием В12 в сыворотке крови использовали коэффициент корреляции Пирсона; проверку гипотез для коэффициента корреляции производили с помощью t-распределения. Выводы считали достоверными при значении $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническая характеристика пациентов.

Среди 22 пациентов было 17 мальчиков и 5 девочек. Медиана дебюта заболевания составляла 12 (от 6 до 39) мес.; медиана возраста постановки диагноза – 59 (от 27 до 150) мес.; медиана длительности наблюдения – 36 (от 9 до 72) мес. У девочек отмечен более ранний дебют заболевания: медиана – 2 (от 1 до 24) мес. и возраст постановки диагноза: медиана – 50 (от 19 до 79) мес.; у мальчиков – 12 (от 9 до 54) мес. и 80 (от 29 до 156) мес. соответственно (табл. 2).

У большинства пациентов клинически отмечено сочетание гемопатий и лимфопролиферативного

синдрома ($n = 17$); изолированный лимфопролиферативный синдром – у 4 пациентов с мутациями гена *Fas*. У большинства пациентов с лимфопролиферацией в дебюте ($n = 12$) отмечено сочетание гепатоспленомегалии и лимфоаденопатии различной степени выраженности (рис. 1); изолированная спленомегалия – у 2 пациентов (с мутацией в *Casp10* и без известного генетического дефекта); гепатоспленомегалия – у 1 пациента с мутацией в *Casp10*; сочетание лимфоаденопатии и спленомегалии – у 6 пациентов, в основном с мутациями гена *Fas*.

Изолированная гемопатия в дебюте заболевания наблюдалась только у одного пациента без известного генетического дефекта. Среди гемопатий изолированная анемия выявлена у 3 пациентов, изолированная тромбоцитопения – у одного, изолированная нейтропения – у одного, сочетание анемии и тромбоцитопении – у 2 пациентов, сочетание тромбоцитопении и нейтропении – у 2 пациентов; в большинстве случаев наблюдалась трехростковая цитопения ($n = 9$); у 13 пациентов было отмечено тяжелое течение цитопении. Среди других аутоиммунных проявлений наблюдались аутоиммунный гепатит (2 случая) и васкулит с поражением ЦНС (1 случай). Онкогематологических заболеваний за время наблюдения не отмечено.

Таблица 2

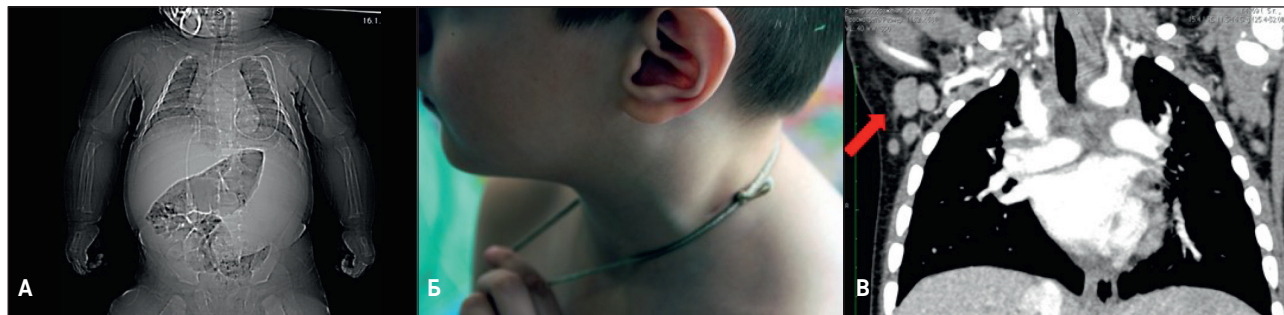
Клинико-лабораторная характеристика пациентов с АЛПС

Пациенты	Мальчики $n = 17$	Девочки $n = 5$	Всего $n = 22$
С мутацией гена <i>Fas</i>	9	4	13
С мутацией гена <i>Casp10</i>	1	1	2
Пациенты без мутаций	7	–	7
Тяжелое течение заболевания	10	3	13
Возраст начала заболевания, мес., медиана (Q1, Q3)	12 (9; 54)	2 (1; 24)	12 (6; 39)
Возраст постановки диагноза, мес., медиана (Q1, Q3)	80 (29; 156)	50 (19; 79)	59 (27; 150)
Медиана наблюдений (min–max)	36 (9; 72)	34 (14; 67)	36 (9; 72)
Изолированный лимфопролиферативный синдром	2	2	4
Изолированные гемопатии	1	–	1
Комбинация лимфопролиферация + гемопатии	14	2	16
Дубль-негативные Т-клетки, %, медиана (Q1, Q3)	8,2 (6,9; 11,5)	11 (9,2; 16)	8,9 (7; 12,8)
Витамин В12, пг/мл, медиана (Q1, Q3)	2122,5 (1162,8; 4243,5)	2009 (1834,3; 5029,3)	2031 (1304,5; 4243,5)
Повышение IgA*	–	–	15
Повышение IgG*	–	–	10
Снижение IgM*	–	–	11
Повышение IgM*	–	–	1
Повышение IgE*	–	–	7
Снижение CD19+*	–	–	9

* Относительно возрастных норм.

Рисунок 1

Лимфопролиферативный синдром у пациентов: **А** – компьютерная томография пациента с АЛПС: выраженная гепатоспленомегалия; **Б** – фото пациента с АЛПС: видимое увеличение лимфатических узлов шейной группы; **В** – компьютерная томография пациента с АЛПС (стрелка указывает на увеличенные лимфоузлы подмышечной области)



Характеристика молекулярно-генетических дефектов у пациентов с АЛПС. Характерные для АЛПС генетические дефекты были обнаружены у 15 пациентов; у каждого из них выявлены гетерозиготные герминальные мутации (табл. 3). У 13 пациентов зафиксированы изменения нуклеотидной последовательности гена *Fas*; среди них преобладали мутации, приводящие к изменению внутриклеточной части белка *Fas* (у 12 человек), преимущественно домена смерти (у 10 человек), что соответствует данным литературы [14, 15]. Два пациента из разных семей имели одинаковую мутацию в гене *Casp10*, один из них имел также гетерозиготную мутацию в гене *CBL* (с.1635 G > A). Семь пациентов соответствовали диагностическим критериям АЛПС, но не имели патологических изменений в генах *Fas*, *FasL*, *Casp8*, *Casp10*.

Лабораторная характеристика пациентов.

Оценка ДНТ – один из важных диагностических критериев АЛПС [16]. У 19 из 22 пациентов количество ДНТ было повышено и варьировало от 6,6 до 45% (от 7 до 12,8%, медиана – 8,9%). Нормальные показатели ДНТ (0,4 и 1,4%) отмечены у 2 пациентов с мутациями в *Casp10*. Незначительное повышение ДНТ наблюдалось также у одного пациента с подтвержденной мутацией в гене *Fas* с минимальной лимфопролиферацией (3,4%).

Повышение содержания витамина В12 – дополнительный критерий диагноза «АЛПС» [16]. Концентрация витамина В12 у пациентов нашей группы варьировала от 500 до 6034 пг/мл (медиана – 2031; от 1304,5 до 4243,5 пг/мл). На момент постановки диагноза повышение содержания витамина В12 > 1500 пг/мл зафиксировано у 9 детей с мутацией в гене *Fas* и у 4 пациентов с неизвестным генетическим дефектом. Все эти пациенты имели выраженную лимфопролиферацию (> 2 баллов), но степень выраженности гемопатий варьировала у них от 0 до 13 баллов. Три пациента с патологическими изменениями в гене *Fas* (один – после спленэктомии, двое – с неизвестным генетическим дефектом) демонстрировали нормальный инициальный показатель сывороточного В12.

У пациентов этой группы была минимальная лимфопролиферация (< 2 баллов), в то время как выраженность цитопений варьировала от 0 до 9 баллов. Содержание В12 при постановке диагноза коррелировало с тяжестью течения заболевания, выраженной как сумма баллов цитопений и лимфопролиферации; коэффициент корреляции составил 0,62 (рис. 2 А). Однако при раздельном анализе корреляции концентрации В12 с выраженностью лимфопролиферации и гемопатий мы обнаружили очень слабую корреляцию со степенью выраженности цитопений ($r = 0,29$) и высокую – со степенью выраженности лимфопролиферативного синдрома ($r = 0,89$) (рис. 2 Б).

У большинства пациентов ($n = 15$; 68% случаев) было отмечено повышение одного или нескольких классов иммуноглобулинов: преобладало сочетание повышения IgA + IgG – у 6 (27%) пациентов; IgA + IgE – у 3 (14%); IgA + IgG + IgE – у 3 (14%); изолированное

Таблица 3
Молекулярно-генетическая характеристика группы пациентов с АЛПС и здоровых носителей мутаций

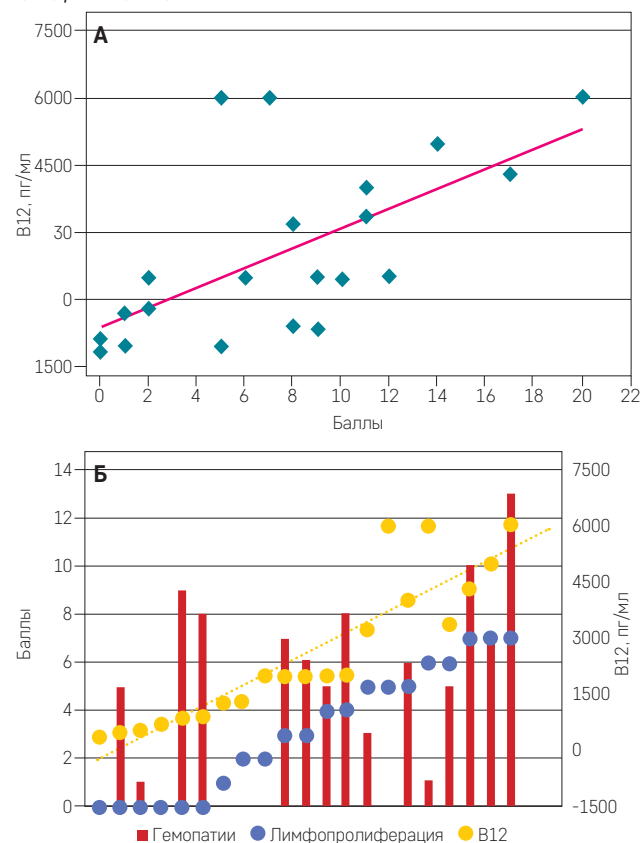
Гены/мутации	Количество пациентов	Количество здоровых носителей
<i>FAS</i> : с.28 Del(C)	1	0
<i>FAS</i> : с. 580 delG	2	2
<i>FAS</i> : с.722 C > T	1	1
<i>FAS</i> : с. 748 C > T	2	1
<i>FAS</i> : с.749 G > A	1	0
<i>FAS</i> : с 778 G > C	1	0
<i>FAS</i> : с.779 A > G	3	1
<i>FAS</i> : с.784 A > C	1	0
<i>FAS</i> : с.950 A > T	1	1
<i>CASP10</i> : с.1216 A > T	2	2
Неизвестно	7	0
Всего	22	8

повышение IgA – у 2 (9%); IgA + IgG + IgM – у 1 (4%) пациента. Всего IgA был повышен у 15 пациентов; IgG – у 10; IgE – у 7; IgM – у одного пациента. Интересно, что у 11 (73%) наших больных с АЛПС зафиксировано снижение IgM, а у 9 (41%) – снижение числа периферических В-лимфоцитов. При этом не отмечено связи снижения IgM с лимфопролиферативным синдромом: в группе пациентов с низким IgM выраженность лимфопролиферации составила с средним 3,7 балла, а в группе с нормальным или повышенным IgM – 3,4 балла ($p = 0,4$).

Морфологическая характеристика лимфоузлов. Диагностическая биопсия лимфатических узлов проведена у 10 пациентов: у 8 из них выявлена выраженная гиперплазия ткани лимфатического узла, которая проявлялась как фолликулярная гиперплазия с прогрессивной трансформацией герминативных центров (у 2 человек), парафолликулярная гиперплазия Т-зон (у 4 человек); у 2 пациентов имелись признаки стирания нормальных структур за счет паракортикальной экспансии ДНТ, которая была выявлена в ходе ИГХ-исследования, что послужило

Рисунок 2

Корреляция содержания витамина В12 с тяжестью заболевания: **А** – соотношение В12 и тяжести заболевания (сумма баллов лимфопролиферации и гемопатии) у отдельных пациентов; линией представлен тренд корреляции этих показателей; коэффициент корреляции – 0,62; **Б** – соотношение содержания В12 и выраженности лимфопролиферации и гемопатий, проанализированных отдельно; коэффициент корреляции витамина В12 с выраженностью гемопатии; коэффициент корреляции В12 с баллами за лимфопролиферацию – 0,89 (95% ДИ – 0,74–0,95; $p < 0,001$)



причиной направления этих пациентов к иммунологу. В двух случаях (при исследовании лимфоузлов по месту жительства) лимфопролиферация описана как злокачественная: в одном случае заподозрена неходжкинская лимфома, в другом случае после постановки диагноза по месту жительства пациент начал получать терапию по поводу Т-клеточной лимфомы. Впоследствии в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева оба препарата были пересмотрены, выполнены дополнительные исследования, в ходе которых не обнаружили признаков периферической Т-клеточной и Т-лимфобластной лимфом, но выявили морфологическую картину парафолликулярной гиперплазии и пролиферации преимущественно CD3+/CD4-/CD8-Т-лимфоцитов (рис. 3). Морфологическая картина гиперплазии лимфатического узла у пациента с АЛПС: стирание нормальных структур узла за счет выраженной гиперплазии парафолликулярных зон (А, ГиЭ); клеточный состав представлен преимущественно CD3+CD4-CD8-лимфоцитами (Б) с единичными CD4 (С) и CD8 (D) позитивными клетками ($\times 200$).

Характеристика здоровых носителей мутаций.

Проведено молекулярно-генетическое обследование родителей пациентов, у которых на момент исследования не было клинических проявлений заболевания: у 8 человек выявлены нуклеотидные замены в генах *Fas* ($n = 6$) и *Casp10* ($n = 2$) (табл. 3). Большинство из них, по их словам, никогда не имели симптомов АЛПС. Два родственника пациентов с вариантом нуклеотидной последовательности с. 580delG в гене *Fas* из одной семьи (II 2 и II 3) в детстве имели клинические проявления заболевания в виде лимфопролиферации и цитопений, у одного из них (II 2) на момент исследования отмечено повышение ДНТ до 8% (рис. 4). Интересно, что в этой же семье описан лимфогранулематоз у двоюродного деда (III 3) пациентов I 1 и I 2, приведший к его смерти. Нельзя исключить, что это были проявления АЛПС.

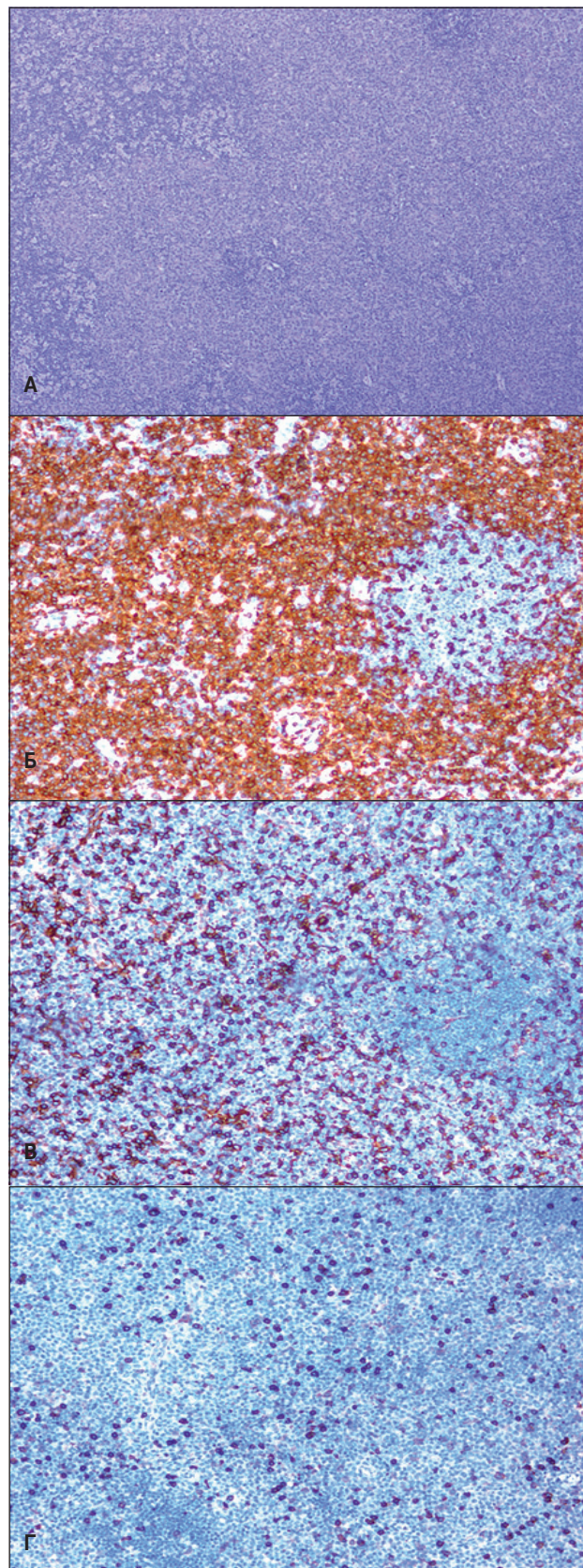
Ни у кого из бессимптомных носителей (кроме II 2 из семьи М.) не отмечено повышение биомаркеров АЛПС: среднее содержание ДНТ – 1,75%, витамина В12 – 446 пг/мл.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

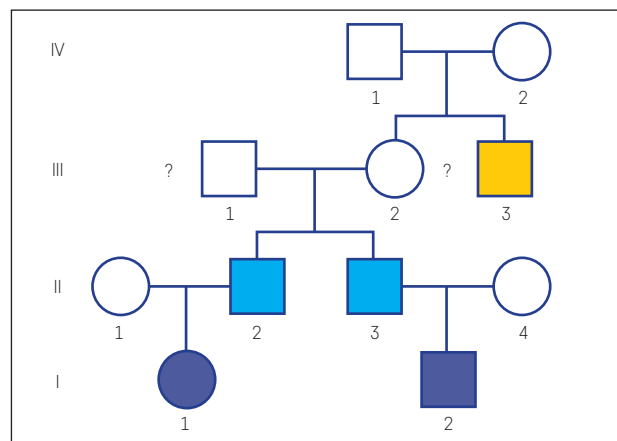
АЛПС – гетерогенное заболевание с переменными клиническими проявлениями, до сих пор представляющее определенные сложности в диагностике. В исследованной нами группе большинство пациентов имело типичное для АЛПС сочетание лимфопролиферативного синдрома и иммунных цитопений, среди которых преобладала гемолитическая анемия (у 14 пациентов). Тем не менее у немногих пациентов в дебюте заболевания отмечена изолированная цитопения или изолированная лимфопролиферация.

Рисунок 3

Морфологическая картина гиперплазии лимфатического узла у пациента с аутоиммунным лимфопролиферативным синдромом: стирание нормальных структур узла за счет выраженной гиперплазии парафолликулярных зон (А, ГиЭ); клеточный состав представлен преимущественно CD3+CD4-CD8-лимфоцитами (Б, CD3) с единичными CD4+ (В, CD4) и CD8+ (Г, CD8) клетками (x200)

**Рисунок 4**

Генеалогическое древо семьи М.: синим цветом обозначены пациенты с симптомами АЛПС – I 1 и 2; голубым – II 2 и 3 – носители той же мутации гена *Fas* (с. 580 delG), здоровые на момент исследования; желтым – родственник, у которого в анамнезе отмечено другое лимфопролиферативное заболевание (в данном случае – лимфогранулематоз); данные о возможном носительстве мутации у родственников III 1, 2, 3 отсутствуют



Этот факт говорит о необходимости осторожности в отношении АЛПС при обследовании пациентов с изолированными, нетипичными симптомами.

Биопсия лимфатических узлов позволяет исключить злокачественные новообразования как у пациентов с недифференцированной лимфопролиферацией, так и у больных с уже подтвержденным диагнозом «АЛПС», она играет важную роль в алгоритме ведения этих пациентов. Однако при обследовании пациентов с массивной симметричной лимфопролиферацией важно иметь представление о патоморфологии лимфоузлов при АЛПС, для которой характерна выраженная гиперплазия парафолликулярных зон с высокой митотической и апоптотической активностью, либо фолликулярная гиперплазия с прогрессивной трансформацией герминативных центров [2, 9], что наблюдалось и у наших пациентов. В некоторых случаях парафолликулярная гиперплазия может быть выраженной вплоть до полного стирания нормальных структур узла и напоминает морфологическую картину злокачественного лимфопролиферативного процесса. Высокая частота неправильной гистологической диагностики злокачественных опухолей как по данным литературы [17], так и по данным нашего исследования говорит о недостаточной информированности патологов об особенностях данного заболевания.

При проведении лабораторных обследований пациентов с подозрением на АЛПС необходимо помнить, что, несмотря на высокую диагностическую значимость повышения ДНТ (как у 20 наших пациентов), их содержание может быть нормальным у пациентов с мутациями, отличными от дефектов гена *Fas*, – при мутациях в гене *Casp10*, по нашим данным, и в гене *FasL*, по данным предшествующих публикаций

[18, 19]. Повышение содержания В12 в сыворотке крови считается биомаркером АЛПС и дополнительным критерием диагноза [9, 16]. Показано, что повышение содержания В12 при АЛПС – это следствие повышения экспрессии гаптокоррина – белка, связывающего витамин В12 в сыворотке [20]. Однако причина повышения синтеза и экспрессии самого гаптокоррина лейкоцитами у больных с АЛПС до сих пор не известна. Наши данные говорят о том, что повышение содержания В12 – не столько диагностический критерий, сколько маркер выраженности проявления заболевания, в большей степени – лимфопролиферации. Его можно использовать не только для подтверждения диагноза «АЛПС», но и для оценки тяжести состояния пациента и контроля эффективности терапии. Несмотря на то что гипергаммаглобулинемия типична для АЛПС, снижение числа В-лимфоцитов и IgM было описано ранее у части пациентов с АЛПС [21]. Одно из объяснений этого лабораторного феномена – нарушение архитектоники фолликулов вторичных лимфоидных органов за счет их инфильтрации ДНТ и, как следствие, нарушение нормальной дифференцировки В-лимфоцитов [9]. Тем не менее необходимы дополнительные исследования для объяснения этого явления и определения прогностической значимости таких иммунологических изменений.

Как и для многих аутосомно-доминантных заболеваний, для АЛПС характерна вариабельная пенетрантность у различных членов семьи, несущих одинаковый генетический дефект [22, 23]. В исследуемой нами группе, включающей 23 носителя тех или иных мутаций, лишь у 17 из них когда-либо были отмечены симптомы заболевания, и только у 15 человек они присутствовали на момент исследования. Даже у носителей патологически измененных нуклеотидных последовательностей гена *Fas* в составе одной семьи клиническая картина заболевания варьировала, начиная с бессимптомного носительства у отца, умеренной спленомегалии и лимфаденопатии на фоне содержания ДНТ, равного 3,4%, и витамина В12 < 1500 нг/мл у одного сиблинга до положительных биомаркеров АЛПС с выраженной лимфопролиферацией и аутоиммунными цитопениями, потребовавшими активной терапии, у другого сиблинга.

Кроме того, ранее показано, что пенетрантность клеточного фенотипа и клинических проявлений АЛПС с мутациями гена *Fas* различна, то есть в отсутствие явных клинических симптомов заболевания могут иметь место лабораторные признаки АЛПС (повышение ДНТ, наличие аутоантител и др.) [24], что отмечено в данном исследовании у одного из бессимптомных носителей. Факторы, определяющие пенетрантность клинической картины АЛПС, не полностью изучены. Возможно, пенетрантность

определяется локализацией и типом мутации [25]. Самая высокая пенетрантность для клинического фенотипа с изменениями нуклеотидных последовательностей гена *Fas* – до 90% – наблюдается при поражении внутриклеточного домена, в частности, домена смерти. Для мутаций, затрагивающих внеклеточный домен, самая высокая пенетрантность составляла лишь 52% [23, 26]. Наше исследование косвенно подтверждает это наблюдение: большинство пациентов (10 из 13 с патологическими изменениями в гене *Fas*) имели дефекты именно внутриклеточного домена *Fas*.

Нельзя исключить, что на пенетрантность мутации при АЛПС влияет ряд эпигенетических факторов, в том числе пол пациента (большинство наших пациентов – лица мужского пола). Кроме того, можно предположить, что у некоторых пациентов с герминальной мутацией *Fas* для возникновения клинических проявлений необходимо возникновение второй, соматической мутации этого гена [7]. Данная теория требует дальнейшего изучения. По данным различных авторов, лимфопролиферативные изменения при АЛПС с возрастом имеют тенденцию к сокращению [26]. В нашей группе у двоих взрослых с замеченными нуклеотидов гена *Fas* отмечено уменьшение клинической симптоматики с возрастом. Однако исследование *O. Lambotte* и соавт., напротив, показало, что с возрастом аутоиммунные проявления при АЛПС не теряют своей актуальности [27]. Более того, у ранее бессимптомных носителей мутаций с течением времени могут развиваться клинические проявления заболевания [7], поэтому так актуально проведение генетического обследования родственников пациентов с АЛПС, а также их дальнейшее наблюдение онкогематологом.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

У.Н. Петрова <http://orcid.org/0000-0002-1258-8281>

Е.В. Райкина <http://orcid.org/0000-0002-7634-2053>

А.В. Пшонкин <http://orcid.org/0000-0002-2057-2036>

А.А. Масчан <http://orcid.org/0000-0002-0016-6698>

А.Ю. Щербина <http://orcid.org/0000-0002-3113-4939>

Литература

- Sneller M.C., Wang J., Dale J.K., Strober W., Middleton L.A., Choi Y., et al. Clinical, immunologic, and genetic features of an autoimmune lymphoproliferative syndrome associated with abnormallymphocyteapoptosis. *Blood* 1997; 89 (4): 1341–8.
- Straus S.E., Sneller M., Lenardo M.J., Puck J.M., Strober W. An inherited disorder of lymphocyte apoptosis: the autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Ann Intern Med* 1999; 130 (7): 591–601.
- Bedere N., Su H.C., Lenardo M.J. Genetic disorder of programmed cell death in the immune system. *Ann Rev Immunol* 2006; 24: 321–52.
- Worth A., Trasher A.J., Gaspar H.B. Autoimmune lymphoproliferative syndrome: molecular basis of disease and clinical phenotype. *Br J Hematol* 2006; 133: 124–40.
- Holzelova E., Vonarbourg C., Stolzenberg M.C., Arkwright P.D., Selz F., Prieur A.M., et al. Autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS) with somatic Fas mutations. *N Engl J Med* 2004; 351: 1409–18.
- Dowdell K.C., Niemela J.E., Price S., Davis J., Hornung R.L., Oliveira J.B., et al. Somatic FAS mutations are common in patients with genetically undefined autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Blood* 2010; 115 (25): 5164–9.
- Magerus-Chatinet A., Neven B., Stolzenberg M.C., Daussy C., Arkwright P.D., Lanzarotti N., et al. Onset of autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS) in humans as a consequence of genetic defects accumulation. *J Clin Invest* 2011; 121: 106–12.
- Agrebi N., Ben-Mustapha I., Matoussi N., Dhouib N., Ben-Ali M., Mekki N., et al. Rare splicing defects of FAS underly severe recessive autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Clin Immunol* 2017; 183: 17–23.
- Oliveira J.B., Bleesing J.J., Dianzani U., Fleisher T.A., Jaffe E.S., Lenardo M.J., et al. Revised diagnostic criteria and classification for the autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS): report from the 2009 NIH International Workshop. *Blood* 2010; 116 (14): e35–40.
- Li P., Huang P., Yang Y., Hao M., Peng H., Li F. Updated Understanding of Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome (ALPS). *Clin Rev Allergy Immunol* 2016; 50 (1): 55–63.
- Canale V.C., Smith C.H. Chronic lymphadenopathy simulating malignant lymphoma. *J Pediatr* 1967; 70: 891–9.
- ESID Registry – Working Definitions for Clinical Diagnosis of PID. Available at: <http://esid.org/WorkingParties/Registry/DiagnosisCriteria>.
- Швец О.А., Щербина А.Ю. Аутоиммунный лимфопрлиферативный синдром. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2016; 15 (1): 34–40.
- Fisher G.H., Rosenberg F.J., Straus S.E., et al. Dominant interfering Fas gene mutations impair apoptosis in a human autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Cell* 1995; 81 (6): 935–46.
- Martin D.A., Zheng L., Siegel R.M., et al. Defective CD95/APO-1/Fas signaling complex formation in the human autoimmune lymphoproliferative syndrome, tipe Ia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96 (8): 4552–7.
- Price S., Shaw P.A., Seitz A., Joshi G., Davis J., Niemela J.E., et al. Natural history of autoimmune lymphoproliferative syndrome associated with FAS gene mutations. *Blood* 2014; 123 (13): 1989–99.
- Gualco G., van den Berg A., Koopmans S., Bacchi L.M., Carneiro S.S., Ruiz E.Jr., Vecchi A.P., Chan J.K. Autoimmune lymphoproliferative syndrome in a patient with a new minimal deletion in the death domain of the FAS gene. *Hum Pathol* 2008; 39 (1): 137–41.
- Bi L.L., Pan G., Atkinson T.P., Zheng L., Dale J.K., Makris C., et al. Dominant inhibition of Fas-ligand mediated apoptosis due to a heterozygous mutation associated with autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS) Type Ib. *BMC Med Genet* 2007; 8: 41.
- Wu J., Wilson J., He J., Xiang L., Schur P.H., Mountz J.D. Fas ligand mutation in a patient with systemic lupus erythematosus and lymphoproliferative disease. *J Clin Invest* 1996; 98: 1107–13.
- Bowen R.A., Dowdell K.C., Dale J.K., Drake S.K., Fleisher T.A., Hortin G.L., et al. Elevated vitamin B₁₂ levels in autoimmune lymphoproliferative syndrome attributable to elevated haptocorrin in lymphocytes. *Clin Biochem* 2012; 45 (6): 490–2.
- Neven B., Bruneau J., Stolzenberg M.C., Meyts I., MagerusChatinet A., Moens L., et al. Defective antipolysaccharide response and splenic marginal zone disorganization in ALPS patients. *Blood* 2014; 124 (10): 1597–609.
- Infante A.J., Britton H.A., DeNapoli T., Middleton L.A., Lenardo M.J., Jackson C.E., et al. The clinical spectrum in a large kindred with autoimmune lymphoproliferative syndrome caused by a Fas mutation that impairs lymphocyte apoptosis. *J Pediatr* 1998; 133 (5): 629–33.
- Jackson C.E., Fischer R.E., Hsu A.P., Anderson S.M., Choi Y., Wang J., et al. Autoimmune lymphoproliferative syndrome with defective Fas: genotype influences penetrance. *Am J Hum Genet* 1999; 64 (4): 1002–14.
- RieuxLaucat F. Inherited and acquired death receptor defects in human autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Curr Dir Autoimmun* 2006; 9: 18–36.
- RieuxLaucat F., Blachère S., Danielan S., De Villartay J.P., Oleastro M., Solary E., et al. Lymphoproliferative syndrome with autoimmunity: a possible genetic basis for dominant expression of the clinical manifestations. *Blood* 1999; 94 (8): 2575–82.
- Neven B., Magerus-Chatinet A., Florin B., Gobert D., Lambotte O., De Somer L., et al. A survey of 90 patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome related to TNFRSF6 mutation. *Blood* 2011; 118: 4798–807.
- Lambotte O., Neven B., Galicier L., Magerus-Chatinet A., Schleinitz N., Hermine O., et al. Diagnosis of autoimmune lymphoproliferative syndrome caused by FAS deficiency in adults. *Haematologica* 2013; 98 (3): 389–92.

Характеристика молекулярно-генетических дефектов и клинических особенностей в группе пациентов с наследственным ангионевротическим отеком 1-го и 2-го типов

Н.Б. Кузьменко, Е.А. Викторова, А.В. Павлова, М.А. Курникова, А.Л. Лаберко, Е.В. Райкина, А.Ю. Щербина

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

Наследственный ангионевротический отек (НАО) – редкое аутосомно-доминантное заболевание, вызванное преимущественно снижением количества и/или нарушением функции С1-ингибитора вследствие мутаций в гене *SERPING1* (*C1NH*). Заболевание проявляется отеками различной степени тяжести и локализации, нередко опасными для жизни. До сих пор нет четких данных о корреляции между мутацией в гене *SERPING1* и течением НАО. Цель исследования: оценка разнообразия мутаций при данной нозологической форме, выявление корреляции между разными типами генетических дефектов и тяжестью клинических проявлений заболевания. В исследуемую группу вошли 69 человек с НАО из 30 семей и 7 бессимптомных носителей мутаций. Анализ мутаций в гене *SERPING1* проводили при помощи прямого секвенирования и метода MLPA. В зависимости от типа мутации пациентов с клиническими проявлениями НАО разделили на две группы: первая – с мутациями, потенциально приводящими к выраженному дефекту белка (включая мутацию в функциональном центре в позиции R466C), вторая – с миссенс-мутациями (кроме R466C). Всего идентифицировано 27 различных мутаций, 11 из которых описаны впервые. Наибольшее число (7 мутаций) обнаружено в 7 экзоне; выявлена большая часть (5 из 27) крупных делеций. Тяжесть течения заболевания оценивали по комплексной шкале: более тяжелое течение выявили у пациентов первой группы по сравнению со второй группой (медиана – 7 и 5 соответственно; $p = 0,03$). Несмотря на возможность постановки диагноза «НАО» с применением клинических и лабораторных исследований, молекулярно-генетическая диагностика играет важную роль в обследовании пациентов с НАО 1-го и 2-го типов, а также их бессимптомных родственников, так как дает возможность ранней постановки диагноза и прогнозирования тяжести течения заболевания с целью раннего начала патогенетической терапии.

Ключевые слова: наследственный ангионевротический отек, ген *SERPING1*, генотип, фенотип, молекулярно-генетическая диагностика.

Контактная информация:

Кузьменко Наталья Борисовна, канд. мед. наук, зав. отделом оптимизации лечения иммунодефицитов, врач аллерголог-иммунолог консультативно-диагностического отделения НИИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России. Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1. Тел.: 8 (495) 287-6570, доб. 5541. E-mail: plunge@list.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-4-35-42

Genetic and clinical characteristics of a group of patients with hereditary angioedema type 1 and 2

N.B. Kuzmenko, E.A. Viktorova, A.V. Pavlova, M.A. Kurnikova, A.L. Laberko, E.V. Raikina, A.Y. Shcherbina

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

Hereditary angioedema (HAE) is a rare disease with autosomal dominant inheritance predominantly caused by decrease of C1 inhibitor level and/or function as a result of *SERPING1* (*C1NH*) gene mutations. HAE patients develop edema of variable severity and localization, often life-threatening. The data on correlation of *SERPING1* defects and HAE clinical course is conflicting. Aim: To study the variability of genetic defects in HAE, their correlation with the severity of disease symptoms. The study group included 69 HAE patients from 30 families, as well as seven symptoms-free mutation carriers (all children). Mutations were assayed via direct sequencing and MLPA method. The patients were divided in two groups depending on the type of the mutation: group one included patients with potentially deleterious mutations (including the functional center R466C), the second – with less deleterious (missense) mutations, excluding R466C. We identified 27 different mutations, 11 have not been described previously. Exon 7 contained the most of them. We found a large proportion (5 out of 27) of large deletions. When disease severity was compared in two groups of patients we found it to be higher in the first group (Me – 7 in the first group, Me – 5 in the second, $p = 0.03$). Though clinical and laboratory data is enough to make the HAE diagnosis, molecular genetic testing is important for patients with HAE type 1 and 2, as well as for their symptoms-free relatives, as it allows an early diagnosis and prediction of the disease severity and a timely start of the targeted therapy.

Key words: hereditary angioedema (HAE), *SERPING1*, genotype, phenotype, molecular genetics.

Correspondence:

Natalia B. Kuzmenko, MD, Head of the Department of Optimization of Treatment of Immunodeficiencies, Institute of Hematology, Immunology and Cell Technology Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russian Federation. Address: Russia 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1. Tel.: +7 (495) 287-6570, доб. 5541. E-mail: plunge@list.ru

Наследственный ангионевротический отек (НАО) – редкое аутосомно-доминантное заболевание, вызванное дефектом системы комплемента [1]. Клинически заболевание проявляется в виде спонтанных отеков различной локализации, в том числе в области дыхательных путей и брюшной полости, что не только представляет угрозу для жизни пациента, но и приводит к значимому нарушению качества жизни [1, 2]. Выделяют три типа НАО; наиболее распространенные – 1-й и 2-й типы, обусловленные дефектами в гене *SERPING1* [2, 3].

Ген *SERPING1* (*serpin peptidase inhibitor, clade G (C1 inhibitor), member 1*) (OMIM no. 606860; GenBankNM_000062.2), или C1INH, локализован на хромосоме 11q12-q13.1 и состоит из 8 экзонов и 7 интронов [4]. Ген кодирует белок C1-ингибитор, относящийся к семейству сериновых протеаз, который играет принципиальную роль в регуляции работы системы комплемента, калликреин-кининовой системы и системы свертывания крови [5, 6].

На сегодняшний день описано более 450 мутаций в гене *SERPING1*, приводящих к проявлениям НАО, большинство из них представлено в соответствующих базах данных (*Online Mendelian Inheritance in Man* – OMIM ID 106100) [7] и базе данных, объединяющей мутации в гене *SERPING1* (HAEdb, hae.enzim.hu) [8]. Мутации встречаются во всех экзонах и экзон-интронных соединениях гена. По мировым данным, наибольшая их концентрация отмечается в 5, 6 и 8 экзонах, наименьшая – в терминальном отделе гена [4].

Несмотря на большое количество известных мутаций, в различных когортах пациентов с НАО описываются все новые дефекты гена *SERPING1* [6, 9, 10]. Высокая частота возникновения новых мутаций обусловлена повышенной лабильностью гена [4]. Интересно, что среди всех спорадических случаев НАО около 20–25% составляют уже описанные ранее мутации, однако возникшие у данных пациентов *de novo* [11]. Одной из причин разнообразия мутагенных изменений считают близость *SERPING1* к центромере – региону, который наиболее подвержен «раскручиванию» в процессе клеточного деления [4]. Другая причина, объясняющая большое разнообразие мутаций в этом гене, – высокая частота повторяющихся элементов. Так, семь интронов гена содержат 17 Alu-повторяющихся последовательностей [12], которые представляют так называемые горячие точки (*hot spots*) для негомологичных рекомбинаций. Повреждения таких участков – частая причина крупных делеций или дупликаций гена [13]. Большие мутационные участки Alu-повторов сконцентрированы в интронах 4 и 6, что делает эти участки гена наиболее нестабильными [4]. Кроме структурных особенностей, для гена *SERPING1* характерна высокая

частота мутаций в сайтах CpG. Так же, как и участки Alu-повторов, CpG сайты представляют мутационные «горячие точки» и подвержены спонтанному дезаминированию [14].

Известно, что НАО наследуется преимущественно аутосомно-доминантным путем [2, 3, 11, 15, 16], описано лишь несколько случаев аутосомно-рецессивного наследования [17, 18].

При НАО 1-го типа наблюдаются снижение количества белка C1-ингибитора, а также его низкая функциональная активность. Большинство повреждений гена приводит именно к этому типу заболевания – около 80–85% всех случаев НАО [19–22]. При НАО 2-го типа синтезируется нефункциональный C1-ингибитор, и, несмотря на нормальное количество белка в плазме, это приводит, как и при 1-м типе, к развитию отеков [19, 20–22]. Такой вариант НАО связан с генетическим дефектом в 8 экзоне гена *SERPING1*, где закодирован функциональный центр белка C1-ингибитора [4, 6]. Интересно, что большинство описанных на данный момент пациентов с НАО 2-го типа имели одну и ту же мутацию в 8 экзоне в позиции Arg444 (согласно традиционной последовательности аминокислот) [23] или Arg466 (R466C) в рекомендациях HUGO [24]. Лишь одна мутация за пределами функционального центра – делеция Lys251 (Lys273) – была описана при НАО 2-го типа [25, 26].

Первые симптомы НАО, как правило, проявляются в детском возрасте, при этом в дебюте заболевания они нередко носят неспецифический характер (единичные эпизоды отеков, неспецифические боли в животе, которые на самом деле являются абдоминальными отеками) [27], что усложняет диагностику и раннее начало патогенетической терапии у пациентов. Учитывая большое количество дефектов гена *SERPING1* и разнообразные клинические проявления НАО, возникает вопрос о влиянии вида мутаций на тяжесть заболевания в целом, и в частности, на частоту, локализацию, выраженность приступов, возраст дебюта заболевания и, как следствие, на необходимость и объем патогенетической терапии. В настоящее время нет четких данных о прямой корреляции генотип–фенотип при развитии НАО, результаты исследований в различных популяциях противоречивы [2, 6, 8, 9, 10, 28–30]. Одна из проблем при изучении корреляции генотип–фенотип при НАО – сложность оценки тяжести течения заболевания в силу разной выраженности и частоты возникновения отеков в разные периоды жизни пациента. На протяжении последних 50 лет были предложены различные подходы к классификации клинических проявлений НАО. Так, существуют шкалы оценки, которые учитывают возраст дебюта заболевания, выраженность, частоту возникновения, продолжительность и локализацию

отека [28–30]. В 2004 году Третья международная рабочая группа по С1-ингибитору выпустила рекомендации по оценке тяжести течения НАО, в которых учитывались частота приступов и интенсивность проявления симптомов. По совокупности набранных баллов заболевание подразделяли на асимптоматическую (0 баллов), легкую (≤ 4 баллов), среднетяжелую (5–6 баллов) и тяжелую (≥ 7 баллов) формы [29]. Однако при данном подходе не учитывался возраст дебюта болезни.

Другая шкала оценки тяжести, предложенная А. Вугит и соавт. [28], присваивает большее число баллов при дебюте симптомов в младшем возрасте. В этой шкале учитываются также органы, в которых развивался отек. Кроме того, в данной шкале необходимость долгосрочной профилактики у конкретного пациента увеличивает оценочную тяжесть заболевания. Однако данная шкала тяжести заболевания не учитывает интенсивность отека, которая играет важную роль для некоторых пациентов без ларингеальных и абдоминальных атак, но имеющих выраженные периферические отеки, отеки лица, нарушающие активность и затрудняющие посещение работы или школы.

На сегодняшний день не существует единой шкалы, учитывающей все нюансы клинической картины заболевания. В нашем исследовании за основу мы взяли шкалу, предложенную А. Вугит и соавт. [28], как наиболее информативную, на наш взгляд. Ее использовали и другие исследователи при определении корреляции генотип–фенотип [9, 31].

Целью нашего исследования были идентификация и анализ различных дефектов гена *SERPING1* у российских пациентов с клиническо-лабораторной картиной НАО 1-го и 2-го типов и их родственников из 30 разных семей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследуемую группу вошли 69 пациентов (31 мужчина и 38 женщин) из 30 семей с клиническими проявлениями НАО (периферическими, ларингеальными отеками, отеками подкожной клетчатки головы и шеи, абдоминальными болями), лабораторными признаками заболевания (снижением уровня С1-ингибитора и/или его функциональной активности) и выявленным дефектом *SERPING1*. Их возраст на момент исследования составил от 1 года до 70 лет (медиана – 31 год).

Молекулярно-генетическая диагностика была проведена у 11 детей из семей с НАО без клинических проявлений; у 7 из них выявлены соответствующие генетические дефекты. Возраст 7 бессимптомных пациентов варьировал от 2 до 11 лет (медиана – 5 лет); они не были включены в оценку корреляции генотип–фенотип.

Все пациентов с клиническими проявлениями НАО ($n = 69$) были распределены на две группы в зависимости от типа мутации. *Первая группа* включала пациентов с более тяжелыми генетическими дефектами, потенциально приводящими к выраженному повреждению белка: с нонсенс-мутациями, дефектами сайтов сплайсинга, сдвигом рамки считывания, крупными делециями, а также миссенс-мутацией в позиции R466C, которая приводит к повреждению реактивного центра белка С1-ингибитора и, как следствие, выраженному снижению его функциональной активности, что характерно для НАО 2-го типа [4, 6, 21]. Во *вторую группу* вошли пациенты с потенциально менее разрушающими дефектами, а именно с миссенс-мутациями гена *SERPING1* (кроме миссенс-мутации, приводящей к замене R466C).

Оценка тяжести заболевания. Оценку выраженности клинических симптомов проводили согласно шкале, опубликованной А. Вугит и соавт. [28], несколько модифицированной нами: учитывались возраст дебюта заболевания (0–5 лет = 3 балла; 6–10 лет = 2 балла; 11–20 лет = 1 балл; > 20 лет = 0 баллов), локализация отеков (периферические отеки = 1 балл, абдоминальные отеки = 2 балла, ларингеальные отеки = 2 балла, отеки головы и лица = 1 балл) и необходимость долгосрочной профилактики (1 балл). В отдельную группу мы выделили отеки головы и лица (вместо отеков других локализаций). Критерии назначения профилактической терапии: отеки чаще, чем два раза в месяц, и/или отеки в области лица, живота, ларингоотеки хотя бы один раз в жизни. Таким образом, тяжесть заболевания мы оценивали в интервале от 1 до 10 баллов.

Молекулярно-генетическая диагностика. Геномная ДНК была выделена из образцов цельной крови с использованием набора реагентов «ДНК-сорб В» (ИнтерЛабСервис, РФ) согласно инструкции производителя. Для первого этапа диагностики применялся метод прямого секвенирования по Сэнгеру, позволяющий выявить миссенс, нонсенс мутации, замены, небольшие делеции и инсерции без/со сдвигом рамки считывания, а также дефекты сайтов сплайсинга. Программа ПЦР и праймеры могут быть предоставлены по запросу.

Анализ полученных данных проводили с использованием программного обеспечения *Variant Reporter v2.0* и *Sequencing Analysis v6.0*. Для компьютерной оценки патогенности найденных миссенс-вариантов применялись программы предсказания патогенности замен аминокислот (SIFT, PROVEAN, PolyPhen-2, MutationTaster, UMD Predictor). Для компьютерного предсказания эффекта изменений в сайтах сплайсинга или прилежащих к сайту сплайсинга участках использованы программы ASSP (*Alternative Splice Site Predictor*) и HSF 3.0 (*Human Splicing Finder*).

При анализе найденных вариантов в качестве референса использован транскрипт ENST00000278407.8, версия генома GRCh38.p10. Найденные генетические варианты в гене *SERPING1* названы в соответствии с номенклатурой, принятой HGVS (*Human Genome Variation Society*).

В случаях, когда мутация не была обнаружена методом секвенирования, образцы в дальнейшем проанализированы на предмет крупных делеций и/или инсерций с использованием мультиплексной лигаз-зависимой амплификации (MLPA). Для пробоподготовки использовали набор реагентов SALSA MLPA P243-A2 *SERPING1* kit (MRC-Holland, The Netherlands). Анализ данных производили с помощью программного обеспечения Coffalyser MLPA data analysis (MRC-Holland, The Netherlands).

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программного обеспечения XLSTAT2015. Для обработки данных в двух группах пациентов и проверки статистических гипотез о связи возраста, клинических признаков в группах с разными типами мутаций применяли U-критерий Манна–Уитни для непараметрических выборок. Различия считали достоверными при значении $p < 0,05$.

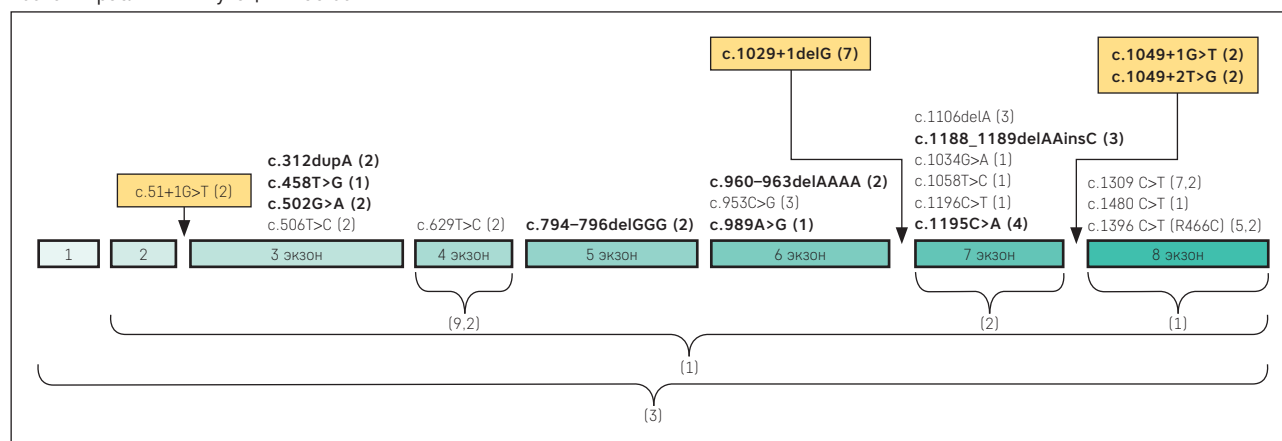
Таблица 1

Сравнение отдельных признаков у пациентов в двух группах

Клинические проявления	Первая группа, %	Вторая группа, %	p
Периферические отеки	94,4	93,3	0,8
Отеки лица	81,4	53,3	0,03
Абдоминальные отеки	87	67	0,1
Ларингеальные атаки	44,4	26	0,2
Необходимость профилактики	62,9	67,6	0,8
Смерть от отека	13,3	5,0	0,1

Рисунок 1

Распределение мутаций в гене *SERPING1* в исследуемой группе пациентов: схема локализации и виды мутаций: всего 27 различных мутаций в 30 семьях



Примечание: цифры в скобках – количество пациентов и число семей (если более одной) с данной мутацией; в фигурных скобках – крупные делеции; стрелки указывают на повреждения сайтов сплайсинга; жирным шрифтом выделены ранее не описанные в литературе мутации.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Краткая характеристика пациентов и проявлений НАО. Диагноз «НАО» был подтвержден молекулярно-генетическим методом у 76 пациентов, включая 7 бессимптомных носителей. Среди пациентов с мутациями в гене *SERPING1* был 71 (93,4%) человек с НАО 1-го типа и 5 (6,6%) – с НАО 2-го типа. У большинства пациентов имелись родственники с НАО, лишь у 10 (14,4%) пациентов не выявлено семейного анамнеза заболевания.

Клинические проявления заболевания на момент исследования были отмечены у 69 человек (табл.). Время дебюта заболевания в данной когорте пациентов имело большой разброс – от 6 мес. до 40 лет (в среднем – 8,3 года; медиана – 6,0 лет). Периферические отеки имело подавляющее большинство пациентов – 65 (94,2%), они локализовались в подкожной клетчатке как верхних, так и нижних конечностей. Абдоминальные отеки наблюдались у 52 (75,3%) пациентов, отеки в области головы и лица – у 44 (70,9%). Ларингеальные атаки имели место у 28 (40,5%) пациентов, 5 (18%) из них скончались от удушья вследствие некупированного ларингеального отека. В получении профилактической терапии нуждались 44 (63,7%) пациента – больше, чем число пациентов с ларингеальными атаками в анамнезе, что отражает необходимость профилактической терапии не только у пациентов с ларингоатаками, но и у тех, кто имеет рецидивирующие абдоминальные или периферические отеки.

Анализ выявленных мутаций. В исследуемой группе у 76 пациентов из 30 семей идентифицировано 27 различных мутаций, все мутации в гетерозиготном состоянии. У 16 пациентов из 6 семей были

обнаружены крупные делеции гена *SERPING1*. Другие мутации локализовались в 3–8 экзонах, 2, 6, 7 интронах, наибольшее количество мутаций найдено в 7 экзоне.

Нами были идентифицированы три делеции нуклеотида и одна дупликация, а также одна делеция-вставка со сдвигом рамки считывания, четыре дефекта сайта сплайсинга, три нонсенс-мутации, десять миссенс-мутаций, включая R466C в 8 экзоне, и пять крупных делеций. Среди обнаруженных дефектов 16 мутаций были описаны ранее, 11 мутаций не указаны в HGMD и публикуются здесь впервые (рис. 1).

Мутации Q437* (с.1309C > T), R466C (с.1396C > T) и делеция 4 экзона обнаружены нами более чем в одной семье; эти семьи не имеют между собой родства.

Три мелкие делеции – с.960–963delA, с.1106delA, с.794–796 delG, одна дупликация A в положении с.312dupA и одна делеция-вставка с.1188_1189delAAinsC, приведшие к сдвигу рамки считывания, были обнаружены у 12 человек из пяти семей. Лишь одна из этих мутаций – с.1106delA – описана ранее [31], остальные публикуются впервые.

Четыре мутации сайта сплайсинга были обнаружены в четырех разных семьях у 17 человек. Три из четырех дефектов были локализованы в области экзон-интронного соединения 7 интрона: с.1249 + 1G > T, с.1249 + 2T > G, с.1029 + 1delG; один дефект – в области экзон-интронного соединения 2 экзона: с.51 + 1G > T. Только одна из четырех мутаций – с.51 + 1G > TG – встречается в литературе [32], остальные из найденных нами дефектов сайта сплайсинга не были описаны ранее.

Нонсенс-мутации Q437* (с.1309C > T), R494* (с.1480C > T), S318* (с.953C > G) встречались у 11

человек из четырех семей, все они описаны ранее [33–35]. Мутация R494* обнаружена у девочки с клиническими проявлениями НАО, но не найдена ни у одного из ее родителей, ни у ее брата, вследствие чего этот дефект можно считать *de novo*.

Девять миссенс-мутаций найдены у 15 человек из 9 семей; четыре из них ранее не описаны: P399T (с.1195C > A), A168T (с.502G > A), L153R (с.458T > G), Y330C (с.989A > G); остальные миссенс-мутации – L201P (с.629T > C), L353P (с.1058T > C), F169S (с.506T > C), P399L (с.1196C > T) – ранее были описаны в литературе [34, 36–38].

Нами обнаружены пять различных крупных делеций в шести семьях. В двух разных семьях (у восьми и одного пациента соответственно) была обнаружена делеция 4 экзона. Кроме того, в отдельных семьях обнаружены делеции 7 и 8 экзонов, делеция 2–8 экзонов и полное выпадение гена *SERPING1*. Все крупные делеции описаны ранее в литературе [36, 37, 39, 40].

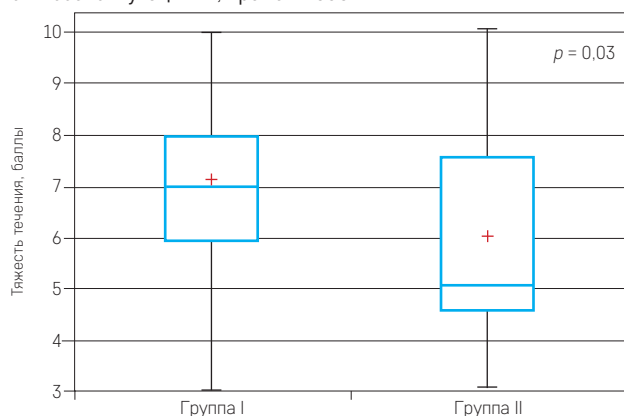
У всех наших пациентов с НАО 2-го типа (5 человек из двух семей) была найдена ранее описанная замена в реактивном центре 8 экзона – R466C (с.1396C > T) [14, 41, 42].

Семь бессимптомных родственников детского возраста являлись носителями следующих дефектов: R466C (с.1396C > T), F169S (с.506T > C), с.1106delA и с.1188_1189delAAinsC, с.1249 + 2T > G и с.1249 + 1G > T и делеции целого гена (1–8 экзоны).

Оценка корреляции генотип–фенотип. При оценке отдельных параметров клиники НАО в группах с более и менее патогенными мутациями мы не выявили разницы в частоте возникновения периферических отеков. Отеки гортани и живота чаще развивались в первой группе, чем во второй, однако эта разница не была статистически достоверна (табл. 1). Отеки лица достоверно чаще возникали у пациентов первой группы ($p = 0,03$). Возраст дебюта заболевания был несколько меньше у пациентов с более патогенными мутациями: в первой группе – от 0,5 до 40 лет (медиана – 6,0 лет); во второй группе – от 2 до 25 лет (медиана – 7,0 лет), но эта разница статистически не достоверна ($p = 0,9$). Частота смертельных исходов была в два раза выше в первой группе, однако и эта тенденция не достигла статистической достоверности (в первой группе – 13,3%; во второй группе – 5,0%; $p = 0,1$). Наконец, мы оценили совокупную тяжесть течения НАО с использованием описанной выше шкалы. Тяжесть заболевания в первой группе варьировала от 3 до 10 баллов (в среднем – 7,1; медиана – 7 баллов), во второй – от 3 до 10 баллов (в среднем – 6,3; медиана – 5 баллов). Таким образом, в первой группе пациенты имели достоверно более тяжелый клинический фенотип заболевания по сравнению со второй группой ($p = 0,03$) (рис. 2).

Рисунок 2

Корреляция тяжести течения заболевания и типа мутации у пациентов разных групп: группа I – пациенты с нонсенс-мутациями, дефектами сайта сплайсинга, сдвигом рамки считывания, крупными делециями, миссенс-мутацией R466C; группа II – пациенты с миссенс-мутациями, кроме R466C



Примечание: + – среднее значение; горизонтальная линия – медиана тяжести заболевания, баллы.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведенное нами исследование позволило охарактеризовать молекулярно-генетические дефекты в группе российских пациентов с НАО 1-го и 2-го типов. Генетические варианты *SERPING1* в нашей группе обследованных локализованы в области 3–8 экзонов и во 2, 6, 7 интронах. В отличие от зарубежных групп, мы не выявили мутаций в 1 и 2 экзонах. Интересно, что в другом исследовании российской группы больных с НАО также не было выявлено мутаций во 2 экзоне гена *SERPING1* [43]. Наибольшее число дефектов у пациентов нашей группы локализовалось в 7 экзоне (примерно четвертая часть – 7 из 27), в отличие от описанного преобладания мутаций в 5, 6 и 8 экзонах [4, 7, 8]. Возможно, такое распределение дефектов в гене *SERPING1* характерно именно для российской популяции. Выявление 11 новых вариантов мутаций подтверждает описанный ранее высокий уровень мутагенеза гена *SERPING1* [4, 12–14]. Кроме того, в нашей группе мы обнаружили большую часть крупных делеций (5 из 27). Эти данные говорят о том, что при наличии клинико-лабораторных признаков НАО и отсутствии дефекта при использовании метода прямого секвенирования по Сенгеру необходимо проводить у пациентов поиск крупной делеции другими доступными методами.

Напротив, при подозрении на НАО 2-го типа, при котором уровень С1 ингибитора при биохимическом анализе соответствует нормальным значениям, но отмечается нарушение его функциональной активности, достаточно проведения прямого секвенирования. Однако поскольку, по литературным и нашим данным, НАО 2-го типа вызван в основном дефектом в 8 экзоне гена *SERPING1*, где закодирован функциональный (реактивный) центр [2, 3, 19, 20], при подозрении на этот тип заболевания разумно исследовать непосредственно 8 экзон для генетического подтверждения диагноза, а в большинстве случаев нет необходимости проводить секвенирование всего гена *SERPING1*. Такой подход к диагностике НАО 2-го типа позволит сократить финансовые и временные затраты на подтверждение диагноза молекулярно-генетическим путем, а также уменьшить гипердиагностику НАО 2-го типа, основанную только на определении функциональной активности С1-ингибитора.

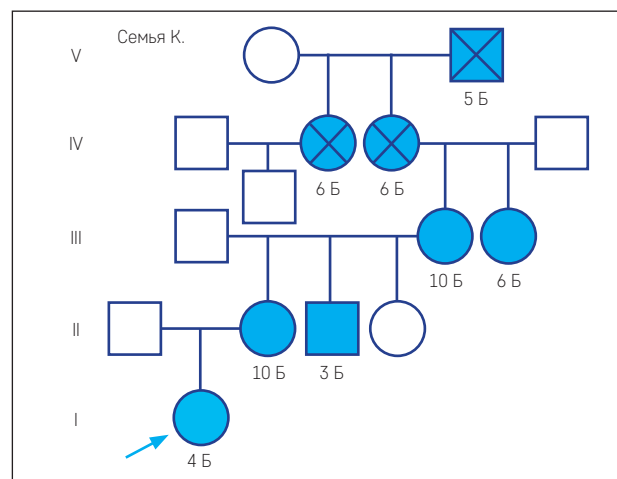
При обследовании здоровых на момент исследования детей в семьях, где у родственников были выявлены дефекты в гене *SERPING1*, аналогичные мутации обнаружены более чем у половины из них (у 7 из 11 человек). Этот факт подтверждает высокую распространенность дефекта в разных поколениях семей с НАО, основанную на аутосомно-доминантном типе наследования, и говорит о необходимости

не только лабораторного, но и молекулярно-генетического обследования родственников с целью ранней постановки этого диагноза. Выявление НАО еще до начала клинических проявлений важно как для своевременного купирования атак при дебюте заболевания, так и для психологической готовности родственников ребенка и информированности педиатра, наблюдающего пациента. Кроме того, обследование детей раннего возраста, родственники которых страдают НАО, на предмет обнаружения генетического дефекта, найденного в семье, – единственный возможный метод диагностики заболевания, поскольку в этой возрастной группе биохимические показатели (уровень С1-ингибитора в плазме крови, его функциональная активность) недостоверны [44, 45].

Некоторые ранее проведенные исследования не смогли выявить корреляцию между видом мутации и тяжестью течения НАО. В нашем исследовании отмечены тенденции к более раннему дебюту заболевания, более частому развитию отеков живота и гортани у пациентов с более патогенными мутациями. Исследование показало также, что тяжесть заболевания, оцененная как совокупность признаков, значимо выше у пациентов с более патогенными отеками. Таким образом, мы, как и *S. Andrejević* и соавт. [9], продемонстрировали возможность использования вида мутации *SERPING1* в качестве прогностического фактора. Отличие от более ранних исследований, не зафиксировавших такой корреляции, состоит, возможно, в применяемой шкале тяжести заболевания, различном делении пациентов на группы, различных возрастных характеристиках исследуемых групп. Кроме того, известно, что при аутосомно-доминантных заболеваниях, которым является НАО, на клинические проявления генотипа могут влиять различные факторы – например, эпи-

Рисунок 3

Генеалогическое древо, иллюстрирующее аутосомно-доминантный тип наследования заболевания в пяти поколениях: пациенты с клиническими проявлениями и мутацией в гене *SERPING1* обозначены голубыми фигурами; арабскими цифрами – выраженность заболевания по шкале тяжести, баллы



генетические, полиморфизмы других генов, факторы окружающей среды [4, 6, 17, 18, 23, 25]. Так, в семьях, где имелось множество пациентов с НАО в разных поколениях, у них нередко отмечалась разница в тяжести течения заболевания. В семье с делецией 4 экзона (рис. 3) у пробанда в первом поколении (I, обозначен стрелкой) отмечен ранний дебют заболевания, проявляющийся периферическими отеками с 1-го года жизни (тяжесть заболевания – 4 балла); у его матери клиническая картина представлена всем многообразием клинических проявлений НАО с дебютом в возрасте 5 лет (тяжесть – 10 баллов); родной брат матери страдает исключительно периферическими отеками в области конечностей, возникающими после физической нагрузки. В следующем поколении (III) представлены две родные сестры: у одной из них заболевание протекает тяжело, с абдоминальными и ларингеальными атаками (тяжесть – 10 баллов), а у ее сестры – значительно менее интенсивно, ларингеальных, абдоминальных атак и отеков в области лица у нее не отмечено (тяжесть – 6 баллов). Таким образом, несмотря на то, что у большинства членов этой семьи тяжесть заболевания соответствует «патогенности» генетического дефекта, у некоторых из них НАО протекает легче.

ВЫВОДЫ

Высокая частота отеков живота и гортани, а также наличие смертей от отеков в обеих группах обследованных нами пациентов говорят о том, что даже при более благоприятном прогнозе заболевания у них имеются риски развития отеков, угрожающих жизни, они должны иметь постоянный доступ к патогенетическим препаратам для немедленного купирования обострения.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Н.Б. Кузьменко <http://orcid.org/0000-0002-1669-8621>

Е.А. Викторова <http://orcid.org/0000-0002-2427-1417>

А.В. Павлова <http://orcid.org/0000-0002-3974-5662>

М.А. Курникова <http://orcid.org/0000-0003-0900-6874>

А.Л. Лаберко <http://orcid.org/0000-0002-2354-2588>

Е.В. Райкина <http://orcid.org/0000-0002-7634-2053>

А.Ю. Щербина <http://orcid.org/0000-0002-3113-4939>

Литература

1. Donaldson V.H., Evans R.R. A biochemical abnormality in hereditary angioneurotic edema. *Am J Med* 1963; 35: 37–44.
2. Cicardi M., Igarashi T., Kim M.S., Frangi D., Agostoni A., Davis A.E. 3rd Restriction fragment length polymorphism of the C1-inhibitor gene in hereditary angioneurotic edema. *J Clin Invest* 1987; 80: 1640–3.
3. Stoppa-Lyonnet D., Tosi M., Laurent J., Sobel A., Lagrue G., Meo T. Altered C1 inhibitor genes in type I hereditary angioedema. *N Engl J Med* 1987; 317: 1–6.
4. Germain A.E., Speletas M. Genetics of Hereditary Angioedema Revisited *Clin Rev Allergy Immunol* 2016 Oct; 51 (2): 170–82.
5. Cugno M., Zanichelli A., Bellatorre A.G., Griffini S., Cicardi M. Plasma biomarkers of acute attacks in patients with angioedema because of C1-inhibitor deficiency. *Allergy* 2009; 64: 254–7.
6. Ferraro M.F., Moreno A.S., Castelli E.C., Donadi E.A., Palma M.S., Arcuri H.A., et al. A single nucleotide deletion at the C1 inhibitor gene as the cause of hereditary angioedema: insights from a Brazilian family. *Allergy* 2011 Oct; 66 (10): 1384–90.
7. Stenson P.D., Mort M., Ball E.V., Shaw K., Phillips A., Cooper D.N. The Human Gene Mutation Database: building a comprehensive mutation repository for clinical and molecular genetics, diagnostic testing and personalized genomic medicine. *Hum Genet* 2014; 133: 1–9.
8. Kalmár L., Hegedüs T., Farkas H., Nagy M., Tordai A. HAEdb: a novel interactive, locus-specific mutation database for the C1 inhibitor gene. *Hum Mutat* 2005; 25: 1–5.
9. Andrejević S., Korošec P., Šilar M., Košnik M., Mijanović R., Bonačić-Nikolić B., Rijavec M. Hereditary Angioedema Due to C1 Inhibitor Deficiency in Serbia: Two Novel Mutations and Evidence of Genotype – Phenotype Association. *PLoS One* 2015 Nov 4; 10 (11): e0142174.
10. Speletas M., Szilagyi A., Psarros F., Moldovan D., Magerl M., Kompoti M., et al. Hereditary angioedema: Molecular and clinical differences among European populations. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135: 570–3.
11. Pappalardo E., Cicardi M., Duponchel C., Carugati A., Choquet S., Agostoni A., Tosi M. Frequent de novo mutations and exon deletions in the C1 inhibitor gene of patients with angioedema. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 1147–54.
12. Tosi M., Duponchel C., Bourgaire P., Colomb M., Meo T. Molecular cloning of human C1 inhibitor: sequence homologies with α 1-antitrypsin and other members of the serpins superfamily. *Gene* 1986; 42: 265–72.
13. Stoppa-Lyonnet D., Carter P.E., Meo T., Tosi M. Clusters of intragenic Alu repeats predispose the human C1 inhibitor locus to deleterious rearrangements. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 1551–5.
14. Skriver K., Radziejewska E., Silbermann J.A., Donaldson V.H., Bock S.C. CpG mutations in the reactive site of human C1 inhibitor. *J Biol Chem* 1989; 264: 3066–71.
15. Cicardi M., Zingale L., Zanichelli A., Pappalardo E., Cicardi B. C1 inhibitor: molecular and clinical aspects. *Springer Semin Immunopathol* 2005; 27: 286–98.
16. Дмитриева А.В., Блинец Е.А., Латышева Т.В., Поляков А.В. Случай ауто-сомно-рецессивного наследования ангионевротического отека I типа.

- Национальная конференция. Российский аллергологический журнал, 2012, №1, вып. 1, 98–101.
17. López-Lera A., Favier B., de la Cruz R.M., Garrido S., Drouet C., López-Trascasa M. A new case of homozygous C1-inhibitor deficiency suggests a role for Arg378 in the control of kinin pathway activation. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 1307–10.
 18. Bafunno V., Divella C., Sessa F., Tiscia G.L., Castellano G., Gesualdo L., et al. De novo homozygous mutation of the C1 inhibitor gene in a patient with hereditary angioedema. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132: 748–50.
 19. Pappalardo E., Caccia S., Suffritti C., Tordai A., Zingale L.C., Cicardi M. Mutation screening of C1 inhibitor gene in 108 unrelated families with hereditary angioedema: functional and structural correlates. *Mol Immunol* 2008; 45: 3536–44.
 20. Cugno M., Zanichelli A., Bellatorre A.G., Griffini S., Cicardi M. Plasma biomarkers of acute attacks in patients with angioedema because of C1-inhibitor deficiency. *Allergy* 2009; 64: 254–7.
 21. Zuraw B.L. Clinical practice. Hereditary angioedema. *N Engl J Med* 2008; 359: 1027–36.
 22. Bowen T., Cicardi M., Farkas H., Bork K., Longhurst H.J., Zuraw B., et al. 2010 International consensus algorithm for the diagnosis, therapy and management of hereditary angioedema. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2010; 6: 24.
 23. Carter P.E., Duponchel C., Tosi M., Fothergill J.E. Complete nucleotide sequence for the C1 inhibitor with an unusually high density of Alu elements. *Eur J Biochem* 1991; 197: 301–8.
 24. Antonarakis S.E. The Nomenclature Working Group Recommendations for a nomenclature system for human gene mutations. *Hum Mutat* 1998; 11: 1–3.
 25. Parad R.B., Kramer J., Strunk R.C., Rosen F.S., Davis A.E. Dysfunctional C1 inhibitor Ta: deletion of Lys-251 results in acquisition of an N-glycosylation site. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 6786–90.
 26. Longhurst H., Cicardi M. Hereditary angio-oedema. *Lancet* 2012; 379: 474–81.
 27. Kuzmenko N.B., Dibirova S.A., Varlamova T.V., Raikina E.V., Viktorova E.A., Shcherbina A.Yu. Principles of diagnosis and treatment of hereditary angioedema. *Pediatric Haematology/Oncology and Immunopathology* 2016; 15 (1): 54–60.
 28. Bygum A., Fagerberg C.R., Ponard D., Monnier N., Lunardi J., Drouet C. Mutational spectrum and phenotypes in Danish families with hereditary angioedema because of C1 inhibitor deficiency. *Allergy* 2011; 66: 76–84.
 29. Agostoni A., Aygören-Pürsun E., Binkley K.E., Blanch A., Bork K., Bouillet L. et al. Hereditary and acquired angioedema: problems and progress: proceedings of the third C1 esterase inhibitor deficiency workshop and beyond. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114:51–131.
 30. Bors A., Csuka D., Varga L., Farkas H., Tordai A., Füst G., et al. Less severe clinical manifestations in patients with hereditary angioedema with missense C1INH gene mutations. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131: 1708–11.
 31. Kalmár L., Bors A., Farkas H., Vas S., Fandl B., Varga L., Füst G., Tordai A. Mutation screening of the C1 inhibitor gene among Hungarian patients with hereditary angioedema. *Hum Mutat* 2003 Dec; 22 (6): 498.
 32. Yamamoto T., Horiuchi T., Miyahara H., Yoshizawa S., Maehara J., Shono E., et al. Hereditary angioedema in Japan: genetic analysis of 13 unrelated cases. *Am J Med Sci* 2012 Mar; 343 (3): 210–4.
 33. Bafunno V., Bova M., Loffredo S., Divella C., Petraroli A., Marone G., et al. Mutational spectrum of the c1 inhibitor gene in a cohort of Italian patients with hereditary angioedema: description of nine novel mutations. *Ann Hum Genet* 2014 Mar; 78 (2): 73–82.
 34. Verpy E., Biasotto M., Brai M., Misiano G., Meo T., Tosi M. Exhaustive mutation scanning by fluorescence-assisted mismatch analysis discloses new genotype-phenotype correlations in angioedema. *Am J Hum Genet* 1996 Aug; 59 (2): 308–19.
 35. Pedrosa M., Phillips-Angles E., López-Lera A., López-Trascasa M., Caballero T. Complement Study Versus C1NH Gene Testing for the Diagnosis of Type I Hereditary Angioedema in Children. *J Clin Immunol* 2016 Jan; 36 (1): 16–8.
 36. Roche O., Blanch A., Duponchel C., Fontán G., Tosi M., López-Trascasa M. Hereditary angioedema: the mutation spectrum of SERPING1/C1NH in a large Spanish cohort. *Hum Mutat* 2005 Aug; 26 (2): 135–44.
 37. Gösswein T., Kocot A., Emmert G., Kreuz W., Martinez-Saguer I., Aygören-Pürsün E., et al. Mutational spectrum of the C1INH (SERPING1) gene in patients with hereditary angioedema. *Cytogenet Genome Res* 2008; 121 (3–4):181–8.
 38. Yakushiji H., Kaji A., Suzuki K., Yamada M., Horiuchi T., Sinozaki M. Hereditary Angioedema with Recurrent Abdominal Pain in a Patient with a Novel Mutation. *Intern Med* 2016; 55 (19): 2885–7.
 39. López-Lera A., Garrido S., Roche O., López-Trascasa M. SERPING1 mutations in 59 families with hereditary angioedema. *Mol Immunol* 2011; 49: 18–27.
 40. Stoppa-Lyonnet D., Duponchel C., Meo T., Laurent J., Carter P.E., Arala-Chaves M., et al. Recombinational biases in the rearranged C1-inhibitor genes of hereditary angioedema patients. *Am J Hum Genet* 1991 Nov; 49 (5): 1055–62.
 41. Sim D.W., Park K.H., Lee J.H., Park J.W. A Case of Type 2 Hereditary Angioedema With SERPING1 Mutation. *Allergy Asthma Immunol Res* 2017 Jan; 9 (1): 96–8.
 42. Firinu D.P., Manconi P.E., Barca M.P., Fenu L., Piseddu G., Zizzo C., et al. Identification of a novel and recurrent mutation in the SERPING1 gene in patients with hereditary angioedema. *Clin Immunol* 2013; 147 (2): 129–32.
 43. Дмитриева А.В., Ильина Н.И., Медуницына Е.Н., Латышева Т.В., Поляков А.В. Генетические аспекты наследственных ангиоотеков. Российский иммунологический журнал 2010, т. 4 (13), №4, с. 431.
 44. Nielsen E.W., Johansen H.T., Holt J., Mollnes T.E. C1 inhibitor and diagnosis of hereditary angioedema in newborns. *Pediatr Res*1994; 35: 184–7.
 45. Nurnberger W., Stannigel H., Muntel V., Michelmann I., Wahn V., Gobel U. In-vivo activation of the 4th component of the complement system (C4) in premature and term infants with generalized bacterial infections. *Klin Padiatr* 1990; 202: 141–6.

Опухоли семейства Юинга: результаты лечения пациентов детского возраста в Республике Беларусь

Л.П. Киселёв

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии
Минздрава Республики Беларусь, Минск

Опухоли семейства Юинга (ОСЮ) возникают в костях и мягких тканях и отличаются от классической саркомы Юинга (СЮ) наличием маркеров нейрональной дифференцировки. Для курации данной патологии используют стратегии терапии, разработанные как для классической СЮ, так и для мягкотканых сарком, как правило, рабдомиосаркомы. Целью исследования была оценка клинических исходов и анализ долгосрочных результатов лечения у пациентов с ОСЮ в зависимости от распространенности онкологического процесса и вариантов использованной системной терапии. В исследование были включены 53 пациента с ОСЮ, получавших лечение в Республиканском научно-практическом центре детской онкологии, гематологии и иммунологии Республики Беларусь с 1999 по 2014 год. Данные о пациентах получены от детского канцер-регистра (включенного в Интернациональное агентство исследования рака – IARC). 15-летняя бессобытийная выживаемость (БСВ) для всей когорты пациентов составила 50,4%; при локализованных и метастатических формах – 57,9 и 20,0% соответственно. Не выявлено значимых отличий в характеристиках пациентов (пол, возраст, уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ), размер и локализация опухоли и др.), позволяющих прогнозировать исход заболевания локализованных форм ОСЮ до начала терапии. При локализованных формах ОСЮ лучшие результаты БСВ констатированы при лечении по протоколам, разработанным для классической СЮ, по сравнению с лечением по протоколам, которые используют при рабдомиосаркоме (62,8 и 50,0% соответственно). Долгосрочные результаты лечения пациентов с ОСЮ в Республике Беларусь соответствуют стандартам стран с развитой системой здравоохранения; для метастатических форм заболевания необходим поиск новых терапевтических подходов. Такие клинические характеристики, как пол, возраст, уровень ЛДГ, размер и локализация опухоли и др., недостаточны для прогноза лечения у пациентов с локализованной ОСЮ в случае раннего рецидива заболевания. Необходимо изучение новых маркеров, связанных с молекулярной биологией опухоли. Использование протоколов классической СЮ ассоциируется с лучшими показателями выживаемости для локализованных форм ОСЮ.

Ключевые слова: дети, выживаемость, лечение, опухоли семейства Юинга костей и мягких тканей.

Контактная информация:

Киселёв Леонид Петрович, канд. мед. наук, зав. онкогематологическим отделением № 3 Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии Минздрава Республики Беларусь, Минск.
Адрес: 223053, Минский р-н, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, д. 43
Тел.: +375 (17) 265-4084,
моб: +375 (29) 6637833
www.oncology.by
E-mail: leonslight@mail.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-4-43-50

Tumors of Ewing family: treatment results of pediatric patients in Belarus Republic

L.P. Kisialeu

Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

Tumors of Ewing family (previously – Peripheral primitive neuroectodermal tumor) (TEF) arise in any bone or soft tissue and differs from the classical Ewing's sarcoma (ES) by markers of neuronal differentiation. The aim of the study was to investigate whether patient characteristics differ between cases with favorable and unfavorable outcomes. We also studied whether treatment strategies (for rhabdoid tumor or for classical ES) affects the clinical outcome of patients with TEF. 53 pediatric patients included in the Belarus Republic (RB) cancer registry database (involved in International Agency for Research on Cancer (IARC)) from 1999 to 2014 were evaluated. Survival rate was estimated via the Kaplan-Meier method and compared using log-rank tests and Cox proportional hazard models. 15-year event-free survival (EFS) of all patients was 50.4%, for the cohorts of patients with localized and metastatic disease OS was 57.9 and 20.0% respectively. Known clinical characteristics (age, sex, tumors volume and other) did not differ between patients with localized TEF depending on the availability of favorable or unfavorable outcomes. Use of protocols for rhabdomyosarcoma associated with worse overall survival results (65% vs. 50%, n.s.) for localized TEF. Treatment results for patients with TEF of the Belarus Republic comply with generally accepted standards. Patients with metastatic status need new treatment strategies. Searching for new predictive markers is necessary for early detection of resistant to conventional treatment patients with localized TEF. For patients with localized TEF, who treated according to classical ES protocols, established an increasing number of favorable outcomes compared to curating according to the rhabdomyosarcomas chemotherapy schemes.

Key words: children, tumors of Ewing family, survival, treatment.

Correspondence:

Leanid Kisialeu, M.D., Ph.D., chief of the Department of Oncology and Hematology for Older Children, Belarusian Research Center for Pediatric Oncology Hematology and Immunology.
Address: 223053, Belarus, Minsk Region, v. Bоровляны, Frunzenskaya, 43.
Tel.: +375 296 637833
Fax: +375 172 654222
www.oncology.by
E-mail: leonslight@mail.ru

ПрIMITивная периферическая нейроэктодермальная опухоль классифицируется как опухоль семейства Юинга (ОСЮ), может возникать в костях или мягких тканях любой локализации, составляет долю от четверти до трети среди всех пациентов детского возраста с опухолями семейства саркомы Юинга (СЮ).

Современный стандарт систематизации результатов терапии при данном заболевании предполагает использование канцер-регистров в целях регистрации первичных пациентов, стадирования онкологического процесса и постлечебного наблюдения [1–4]. Отличают ОСЮ от классической СЮ на основании наличия маркеров нейрональной дифференцировки: нейрон-специфической енолазы, CD57, синаптофизина, а также протеинов нейрофиломента и S100 [5–6]. Ранее критерием отличия классической СЮ от ОСЮ считали степень нейрональной дифференцировки, но современные молекулярно-биологические исследования показали, что эти опухоли имеют общие генные перестановки, вовлекающие ген *EWS* на 22 хромосоме; а значит, это различие устарело [7–8]. Раньше для терапии ОСЮ использовали протоколы, разработанные для мягкотканых сарком, как правило, рабдомиосаркомы [6–7]. Сегодня все большее распространение получает тезис о том, что у пациентов с ОСЮ костей и мягких тканей целесообразнее использовать системную терапию, разработанную для классической СЮ [7–8].

В последние десятилетия использование полихимиотерапии позволило значительно улучшить отдаленные результаты лечения – до 60–65% для локализованных (неметастатических) форм заболевания. Однако эти достижения не привели к увеличению количества положительных исходов у пациентов с метастазами на момент постановки диагноза; показатели выживаемости у них не превышают 15–25%, несмотря на применение различных вариантов высокоинтенсивных химиотерапевтических режимов [7, 8]. Помимо наличия метастазов, в литературных источниках представлены такие клинические маркеры прогноза, как большой размер и центральная локализация новообразования, более старший возраст пациента и др., однако, по мнению многих авторов, широкая вариабельность перечисленных критериев зачастую затрудняет их практическое использование в клинической практике [6–8]. В Республиканском научно-практическом центре детской онкологии, гематологии и иммунологии Республики Беларусь (РНПЦДОГИ РБ) за 15 лет системное лечение ОСЮ костей и мягких тканей получили 53 пациента.

Цель нашего исследования: оценка показателей долгосрочной выживаемости, анализ клинико-патологических характеристик пациентов детского возраста с благоприятными и неблагоприятными

исходами терапии при ОСЮ костей и мягких тканей, а также сравнение результатов лечения в зависимости от распространенности опухолевого процесса и использованных вариантов системной терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Были использованы данные Детского суб-канцер-регистра (включенного в Интернациональное агентство исследования рака – IARC), в котором с 1999 по 2014 год зарегистрированы 53 пациента с диагнозом «ОСЮ», диагностированные в РНПЦДОГИ РБ – единственном в Беларуси учреждении, где лечат детей и подростков до 18 лет. Исследование одобрено локальным этическим комитетом РНПЦДОГИ. При постановке диагноза использовали методы: гистологический, иммуногистохимический и молекулярно-биологический – установление посредством полимеразной цепной реакции в реальном времени наличия в ткани опухоли и костном мозге транслокаций, связанных с 22 хромосомой: $t(11;22)$, $t(21;22)$, $t(7;22)$, $(17;22)$, $t(2;22)$. Пациентам проводили локальный контроль (операция, операция + лучевая терапия, только лучевая терапия), программное системное лечение.

● **Режим 1** – химиотерапию проводили по схемам, разработанным для рабдомиосаркомы: использовали винкристин, доксорубицин, алкилирующие агенты, этопозид, препараты платины [6, 9].

● **Режим 2** базировался на рекомендациях Европейского общества онкологов после 1992 года: использовали винкристин, доксорубицин, дактиномицин, этопозид, а также алкилирующие агенты – ифосфамид и циклофосфамид в режиме рандомизации [10].

● **Режим 3** – схема в соответствии с рекомендациями американских детских онкологов для костной СЮ: блоки винкристин/доксорубицин/циклофосфамид и этопозид/ифосфамид в альтернирующем режиме [11]; консолидирующая терапия посредством высоких доз бусульфана и мелфалана с поддержкой периферической стволовой клеткой [12].

● **Режим 4** базировался на рекомендациях Европейского общества онкологов после 1999 года: четырехкомпонентные индукционные блоки (винкристин, доксорубицин, ифосфамид и этопозид); трехкомпонентная консолидирующая терапия (винкристин, ифосфамид, актиномицин Д) [13].

● **Режим 5** – при постановке диагноза пациентам с локализованными формами СЮ уровень экспрессии мРНК *TFPI2* (ингибитор путей тканевого фактора) и соотношения изоформ фактора роста сосудов *VEGFA165/VEGFA189* в ткани опухоли исследовали в проспективном режиме. В качестве молекулярной комбинации неблагоприятного прогноза

(МКНП) нами ранее был определен уровень экспрессии мРНК гена *TFPI2* $\leq 0,8$ и соотношение изоформ VEGFA165/VEGFA189 $\leq 1,0$ в ткани опухоли перед началом терапии [14]. При наличии МКНП стандартную терапию усиливали путем назначения препарата бевацизумаб в дозе 7,5 мг/кг в 1-й день каждого блока химиотерапии. При молекулярной комбинации благоприятного прогноза антиангиогенную терапию пациентам не проводили. Таким образом, для селективных пациентов режима 5 наряду с четырехкомпонентной индукцией и трехкомпонентной консолидацией применяли блокаду ангиогенеза препаратом бевацизумаб на основании уровней маркеров ангиогенеза в ткани опухоли перед системной терапией.

Для оценки влияния на клинический исход вида системной терапии пациентов с локализованными формами ОСЮ разделили на две группы.

Пациентам **1-й группы** химиотерапию проводили по схемам, разработанным для мягкотканых опухолей рабдоидного генеза (*режим 1*): использовали винкристин, доксорубин, алкилирующие агенты, этопозид, препараты платины.

У пациентов **2-й группы** использовали режимы системной химиотерапии (*режимы 2–5*), разработанные для классической СЮ.

По окончании лечения пациентов наблюдали специалисты Детского канцер-регистра Республики Беларусь, постоянно обновляя статус. Длительность бессобытийной (БСВ) и общей (ОВ) выживаемости, кумулятивной частоты рецидива (КЧР) исчисляли от времени постановки инициального диагноза.

Статистический анализ данных проводили с использованием программы R-statistics, версия 3.2.0, R Foundation for Statistical Computing, лицензия GNU GPL. Оценку статистической значимости различий между сравниваемыми количественными показателями выполняли с использованием U-критерия Манна-Уитни. Сравнение в группах по индивидуальным параметрам проводили с помощью χ^2 теста. Кривые ОВ и БСВ выстраивали по методу Каплана-Мейера; для сравнительной оценки достоверности различий использовали логранговый критерий (*log-rank test*). Кумулятивную частоту возникновения событий рассчитывали методом конкурирующих рисков; различия кумулятивных частот оценивали с использованием теста Gray. Различия считали статистически значимыми при вероятности ошибки менее 5% ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Смерть от инфекционных осложнений без признаков рецидива констатирована у 3 (5,6%) из 53

пациентов (двое – с локализованными, один – с метастатической формой заболевания). Они исключены из дальнейшего анализа клинико-патологических характеристик в зависимости от наличия или отсутствия рецидива.

Повторно вышли в ремиссию после терапии 2-й линии и живы на момент анализа 5 (33,3%) из 15 пациентов с рецидивами (все с локализованными формами заболевания).

В 1-ю группу (пациенты, развившие рецидив заболевания) были классифицированы 22 человека (15 – с локализованными и 7 – с метастатическими формами заболевания). Во 2-ю группу (пациенты, находящиеся в ремиссии по основному заболеванию) вошли 28 человек (26 – с локализованной и 2 – с метастатической формой заболевания).

Учитывая, что наличие метастатического поражения на момент постановки диагноза – наиболее значимый известный фактор прогноза, клинико-патологические характеристики пациентов с локализованными и метастатическими формами оценивали отдельно.

Клинико-патологические характеристики пациентов с локализованными формами ОСЮ представлены в *таблице 1*. Пациентов разделили на две группы в зависимости от наличия или отсутствия рецидива/продолженного роста заболевания. Пациенты мужского пола незначительно преобладали в группе рецидивов (53,4 и 42,3%), а относительные значения количества пациентов старшей возрастной группы были практически идентичны (53,4 и 53,8%). Уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ) наряду с размерами опухолевого очага варьировал в широком диапазоне, более того, у пациентов с благоприятным исходом медианные значения уровня ЛДГ и объема первичного опухолевого очага были несколько выше, чем в группе рецидивов (разница статистически не значима). Наиболее частой локализацией в обеих группах были ребра (50,0%), вторыми по частоте встречаемости оказались позвонки. Тазовую локализацию, как правило, расценивают как неблагоприятную, но оба пациента с наличием опухоли в этой области на данный момент находятся в длительной ремиссии. Не констатировано значимых различий между группами по проценту широких резекций, так же как и в относительном количестве пациентов, которым было выполнено хирургическое вмешательство. Отмечен больший удельный вес случаев использования протоколов для мягкотканых рабдоидных опухолей в группе с неблагоприятными исходами заболевания; для этой группы констатировано также меньшее количество выраженного патоморфоза опухоли ($\geq 90\%$).

В группе пациентов с метастатическими формами ОСЮ у 7 (77,8%) из 9 человек произошел рецидив,

Таблица 1

Клинико-патологические характеристики пациентов с локализованными формами ОСЮ

Характеристика		Пациенты с рецидивом, n = 15		Пациенты без рецидива, n = 26		p
		n	%	n	%	
Пол	мужской	8	53,4	11	42,3	0,4952
	женский	7	46,6	15	57,7	
Возраст, лет	≤ 14	8	53,4	14	53,8	0,9747
	> 14	7	46,6	12	46,2	
ЛДГ, ед/мл	медиана	427	–	457	–	0,3423
	min-max	242–556	–	216–720	–	
Анатомическая локализация	бедро	1	6,6	3	11,5	0,6126
	ребро	8	53,8	13	50,0	0,8370
	череп	3	19,8	2	7,7	0,2460
	позвонки	3	19,8	6	23,1	0,8187
	таз	0	0	2	7,7	0,2707
Размер опухоли, см	медиана	9,1	–	8,0	–	0,9697
	min-max	2,3–13,0	–	2,0–22,0	–	
Объем опухоли, мл	медиана	112,0	–	116,2	–	0,4547
	min-max	22,0–715,0	–	12,0–1124,0	–	
Операция	широкая резекция	6	40,0	10	38,5	0,9225
	частичная резекция	4	26,6	7	26,9	0,9857
	не выполняли	5	33,4	9	34,6	0,9335
Локальный контроль	только операция	4	28,6	11	42,3	0,3166
	операция и облучение	6	42,8	7	26,9	0,3861
	только облучение	4	28,6	8	30,8	0,7809
Гистологический ответ	некроз ≥ 90%	2	28,6	10	76,9	0,0885
	некроз < 90%	5	71,4	3	23,1	0,0898
Режим химиотерапии	режим 1	7	47,2	7	27,8	0,1991
	режим 2	0	0	1	3,8	0,4419
	режим 3	1	6,6	3	11,4	0,6126
	режим 4	3	19,8	5	19,0	0,5820
	режим 5	4	26,4	10	38,0	0,4430

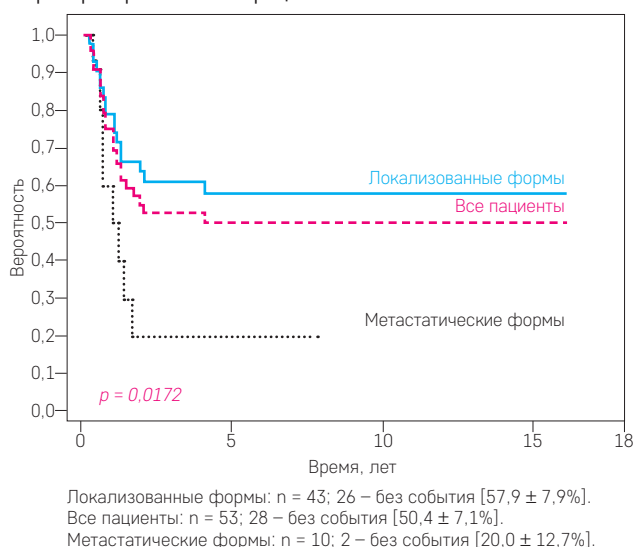
Таблица 2

Клинико-патологические характеристики пациентов с метастатическими формами ОСЮ

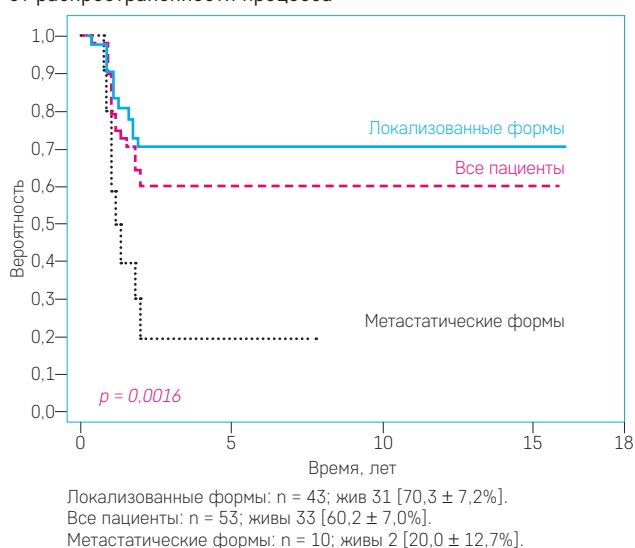
Характеристика		Пациенты с рецидивом, n = 7		Пациенты без рецидива, n = 2		p
		n	%	n	%	
Пол	мужской	3	42,9	1	50	0,8577
	женский	4	67,1	1	50	
Возраст, годы	≤ 14	4	67,1	1	50	0,8577
	> 14	3	42,9	1	50	
Анатомическая локализация	бедро	3	42,8	–	0	0,2568
	ребро	2	28,6	–	0	0,3914
	позвонки	2	28,6	1	50,0	0,5707
	таз	0	0	1	50,0	0,0472
Операция	широкая резекция	2	28,6	0	0	0,3914
	частичная резекция	0	0	1	50,0	0,0472
	не выполняли	5	71,4	1	50,0	0,5708
Локальный контроль	только операция	1	16,6	0	0	0,5708
	операция и облучение	1	16,6	1	50,0	0,2840
	только облучение	4	66,8	1	50,0	0,8577
Гистологический ответ	некроз ≥ 90%	2	100,0	1	100,0	0,5708
	некроз < 90%	0	0	0	0	
МТС	изолированно в легкие	4	67,1	1	50,0	0,8577
	другие	3	42,9	1	50,0	
Режим химиотерапии	режим 1	3	42,9	1	50	0,8577
	режим 2	0	0	0	0	0,8577
	режим 3	4	67,1	1	50	
	режим 4	0	0	0	0	
	режим 5	0	0	0	0	

Рисунок 1

Бессобытийная выживаемость пациентов с ОСЮ в зависимости от распространенности процесса

**Рисунок 2**

Общая выживаемость пациентов с ОСЮ в зависимости от распространенности процесса



и только в двух случаях констатирована ремиссия. Клинико-патологические характеристики пациентов с метастатическими формами экстраоссальной СЮ представлены в таблице 2.

Среди выживших пациентов один – с изолированными метастазами только в легкие, один – с мультисистемным распространением; в обоих случаях с благоприятными исходами имеет место не периферическая, а центральная локализация первичного опухолевого очага (таз и позвоночник).

Протокол, разработанный для рабдомиосаркомы, был эффективен у 1 (25,0%) из 4 пациентов с метастатическим распространением онкологического процесса.

Мы оценили показатели БСВ, ОВ и КЧР за 15-летний период наблюдения как для всей когорты пациентов с ОСЮ костей и мягких тканей, так и отдельно для метастатических и локализованных форм

Рисунок 3

Кумулятивная частота развития рецидивов у пациентов с ОСЮ в зависимости от распространенности процесса

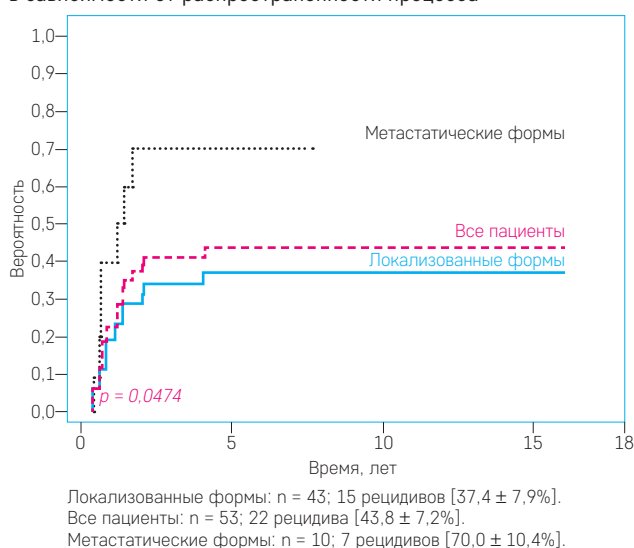


Таблица 3

Клинико-патологические характеристики пациентов с локализованными формами ОСЮ в зависимости от вида системной терапии

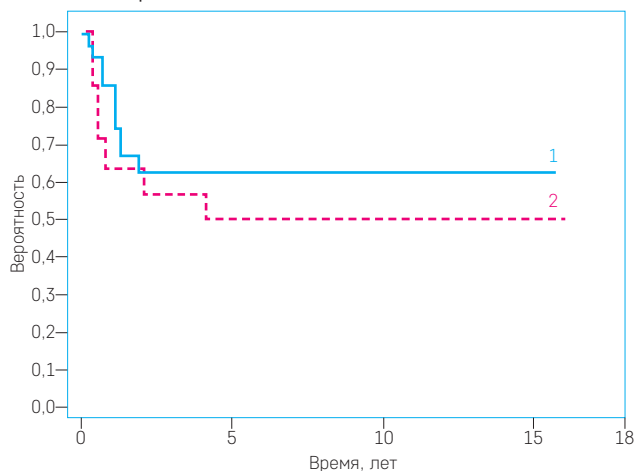
Характеристика		1-я группа*, $n = 14$		2-я группа 2**, $n = 29$		p
		n	%	n	%	
Пол	мужской	7	50,0	13	44,8	0,7672
	женский	7	50,0	16	55,2	
Анатомическая локализация	грудная стенка (Аскин)	7	50,0	14	48,2	0,9215
	конечности	3	21,4	5	17,2	0,9651
	другая	4	28,6	10	34,6	0,9447
Операция	широкая резекция	4	28,6	14	48,2	0,2101
	частичная резекция	4	28,6	5	17,2	0,5217
	не выполнялась	6	42,8	10	34,6	0,4460
Локальный контроль	только операция	2	14,4	10	34,6	0,0947
	операция и облучение	6	42,8	9	31,0	0,3224
	только облучение	6	42,8	10	34,6	0,4460
Гистологический ответ	некроз $\geq 90\%$	2	50,0	8	57,1	0,1241
	некроз $< 90\%$	2	50,0	6	42,9	0,5613

*1-я группа – пациенты с ОСЮ, получившие лечение по схемам терапии, разработанным для рабдомиосаркомы;

**2-я группа – пациенты с ОСЮ, получившие лечение по схемам терапии классической СЮ.

Рисунок 4

Бессобытийная выживаемость пациентов с локализованными формами ОСЮ в зависимости от использованных протоколов системной терапии



1 – протоколы классической СЮ: n = 29; без события – 19 [62,8 ± 9,4%].
2 – протоколы, разработанные для рабдомиосаркомы: n = 14; без события – 7 [50,0 ± 13,4%].

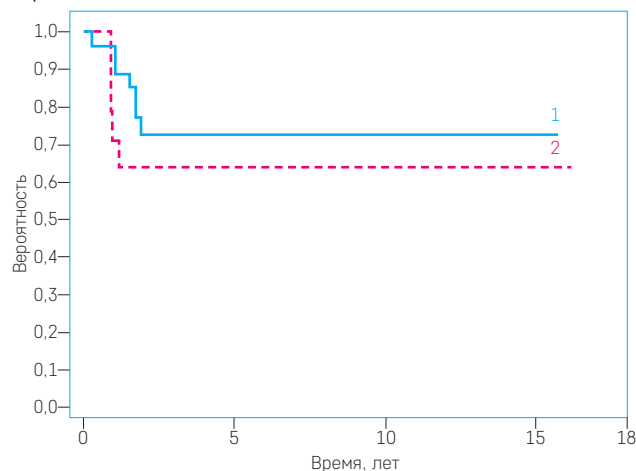
заболевания. БСВ всей когорты с ОСЮ составила 50,4%; для пациентов с метастатическими и локализованными формами – 20,0 и 57,9% соответственно (рис. 1); ОВ для всей когорты – 60,2%; для пациентов с метастатическими и локализованными формами – 20,0 и 70,3% (рис. 2); КЧР для всей когорты – 43,8%; для пациентов с метастатическими и локализованными формами – 70,0 и 37,4% (рис. 3).

Клинико-патологические характеристики пациентов с локализованными формами ОСЮ в зависимости от вида системной терапии представлены в таблице 3. Наиболее частой локализацией в обеих группах была грудная клетка – 50,0 и 48,2% случаев; поражение конечностей в сравниваемых группах – 21,4 и 17,2% соответственно. Относительные значения количества пациентов мужского и женского пола в сравниваемых группах практически не отличались. Только лучевая терапия в качестве локального контроля была использована в 1-й группе в 42,8% случаев, а во 2-й группе – в 34,6%. Во 2-й группе отмечено несколько большее количество широких резекций (они были выполнены практически у половины пациентов). Относительное количество случаев с выраженным некрозом опухоли ($\geq 90\%$) было несколько больше во 2-й группе – 50%; в 1-й – 57,1%, но необходимо учитывать, что патоморфоз определяли только у пациентов с полным удалением опухоли. Разница в показателях по представленным параметрам не была статистически значимой.

Показатели БСВ и ОВ за 15-летний период наблюдения у пациентов с локализованными формами ОСЮ оценивали в зависимости от плана использованной системной терапии. БСВ пациентов, получавших лечение по протоколам, разработанным для рабдомиосаркомы (1-я группа), составила 50,0%, а для

Рисунок 5

Общая выживаемость пациентов с локализованными формами ОСЮ в зависимости от использованных протоколов системной терапии



1 – протоколы классической СЮ: n = 29; живы – 22 [72,9 ± 8,8%].
2 – протоколы, разработанные для рабдомиосаркомы: n = 14; живы – 11 [64,3 ± 12,8%].

пациентов, получавших системную терапию по протоколам классической СЮ (2-я группа) – 62,8% (рис. 4); ОВ в 1-й группе пациентов – 64,3%; во 2-й группе – 72,9% (рис. 5). Наблюдается тенденция к улучшению клинического исхода при использовании протоколов классической СЮ для пациентов с ОСЮ костей и мягких тканей (статистически значимой разницы между показателями выживаемости не получено).

В исследовании представлены результаты лечения педиатрических пациентов с ОСЮ за 15-летний период наблюдения, проведен анализ клинико-патологических характеристик пациентов с благоприятными и неблагоприятными исходами заболевания, а также сравнение результатов лечения в зависимости от вида примененной системной терапии. При оценке показателей у пациентов с рецидивом заболевания и находящихся в ремиссии констатирована сопоставимость групп как в использовании терапевтических подходов (локальный контроль и системная терапия), так и при сравнении значений известных клинических показателей. Наличие метастатического поражения остается неоспоримым фактором плохого клинического исхода заболевания. При локализованных формах заболевания такие параметры, как уровень ЛДГ, пол, возраст, размер новообразования, локализация первичного опухолевого очага и др., имели широкий диапазон и не могут однозначно характеризовать ту или иную из сравниваемых когорт. Отмечено большее количество случаев выраженного опухолевого патоморфоза в группе пациентов, находящихся в ремиссии по основному заболеванию. В этом есть логика, но необходимо учитывать, что степень ответа новообразования на проведенное системное лечение становится очевидной только после нескольких месяцев (курсов) химиотерапии и не позволяет адекват-

но воздействовать на опухоль непосредственно при постановке диагноза. Комиссия по изучению биомаркеров Детской онкологической группы (*Children's Oncology Group* – COG) Национального института здоровья США свидетельствует, что на сегодняшний день отсутствует четкое понимание того, какие локализованные формы ОСЮ не ответят на лечение и для каких метастатических форм терапия может оказаться эффективной [7]. В современных протоколах план терапии одинаков для всех пациентов с локализованными формами ОСЮ [6, 7, 9]. Для стратификации пациентов перед началом системного лечения на группы неудовлетворительного и благоприятного исхода заболевания необходимы новые подходы, подразумевающие изучение биологии опухоли посредством молекулярных маркеров.

Ранее в детской онкологии отсутствовала единая позиция при выборе плана системной терапии при ОСЮ костей и мягких тканей. Часть пациентов с данной нозологией получала полихимиотерапию согласно схемам, разработанным для рабдомиосаркомы; для других использовали протоколы классической СЮ. В настоящем исследовании представлены данные сравнения результатов лечения в зависимости от вида примененной системной терапии. Выявлены худшие показатели выживаемости у группы пациентов с локализованными формами ОСЮ, у которых использовали схемы химиотерапии, разработанные для рабдомиосаркомы, – 50,0% против 62,8% при оценке БСВ и 64,3% против 72,9% при оценке ОВ.

При анализе результатов лечения по терапевтическим протоколам мягкотканых опухолей IRS-I, IRS-II и IRS-III (*Intergroup Rhabdomyosarcoma Study*) показатели 10-летней выживаемости для локализованных форм ОСЮ составляли от 62 до 65% [4, 8, 15]. Объединенная оценка клинических исходов у 683 пациентов с ОСЮ костей и мягких тканей, лечившихся по протоколам классической СЮ, констатировала 69%-ю выживаемость при локализованных формах [6]. По результатам объединенного анализа (включая первично-метастатические формы) более половины всех диагностированных пациентов с ОСЮ костей и мягких тканей выживают, по данным регистров

США (*Surveillance, Epidemiology, and End Results* – SEER, 2014) и Европы (*Automated Childhood Cancer Information System* – ACCIS, 2007) [5, 7]. Анализ долгосрочных показателей выживаемости пациентов в Республике Беларусь показал, что уровень БСВ и ОВ как в общей когорте пациентов с ОСЮ костей и мягких тканей (50,4 и 60,2% соответственно), так и при локализованных формах, оцененных отдельно (57,9 и 70,3%), сопоставим со стандартами стран с развитой системой здравоохранения. Можно предположить, что централизация диагностических и лечебных мероприятий в одном высокоспециализированном учреждении позволяет увеличить вероятность благоприятных исходов для всех педиатрических пациентов страны. Однако при изучении эффективности новых лекарственных агентов и терапевтических подходов целесообразна мультицентровая и мультистрановая кооперация.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Долгосрочные показатели выживаемости педиатрических пациентов с ОСЮ костей и мягких тканей в Республике Беларусь соответствуют стандартам стран с развитой системой здравоохранения. Поиск новых терапевтических агентов и стратегий лечения необходим для трети локализованных и большинства метастатических форм новообразования. Актуальна задача раннего прогнозирования исхода заболевания с помощью молекулярных маркеров. Использование протоколов классической СЮ для локализованных форм ОСЮ ассоциируется с большим количеством благоприятных исходов по сравнению с применением схем, разработанных для рабдомиосаркомы.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Л.П. Киселёв <http://orcid.org/0000-0003-2071-8143>

Литература

1. Петрович С.В., Алейникова О.В. Особенности заболеваемости злокачественными новообразованиями детей первого года жизни в Республике Беларусь. Медико-биологические аспекты аварии на Чернобыльской АЭС, 2004; 1: 3–11.
2. Румянцев А.Г., Варфоломеева С.Р., 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.
3. Delattre O., Zucman J., Melot T. The Ewing family of tumors: A subgroup of small-roundcell tumors defined by specific chimeric transcripts. *N Engl J Med* 1994; 331: 294–9.
4. De Gruttola V.G., Clax P., Demets D.L., Downing G.J., Ellenberg S.S., Friedman L., et al. Considerations in the evaluation of surrogate endpoints in clinical trials. Summary of a National Institutes of Health workshop. *Control. Clin Trials*

- 2001; 22: 485–502.
5. Smith M.A., Altekruse S.F., Adamson P.C., Reaman G.H., Seibel N.L. Declining childhood and adolescent cancer mortality. *Cancer* 2014; 120: 2497–506.
6. Applebaum M.A., Worch J., Matthay K.K., Goldsby R., Neuhaus J., West D.C., Dubois S.G., et al. Clinical features and outcomes in patients with extraskeletal Ewing sarcoma. *Cancer* 2011; 117 (13): 3027–32.
7. Grier H.E., Krailo M.D., Tarbell N.J., Link M.P., Fryer C.J.H., Pritchard D.J., et al. Addition of ifosfamide and etoposide to standard chemotherapy for Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumor of bone. *N Engl J Med* 2003; 348 (8): 694–701.
8. Arndt V., Lacour B., Steliarova-Foucher E., Spix C., Znaor A., Pastore G., et al. Up-to-date monitoring of childhood cancer long-term survival in Europe: tumours of the sympathetic nervous system, retinoblastoma, renal and bone tumours, and soft tissue sarcomas. *Ann Oncol* 2007; 18: 1722–33.
9. Smith M.A. The impact of doxorubicin dose intensity on survival of patients with Ewing's sarcoma. *J Clin Oncol* 1991; 9: 889–91.
10. Granowetter L., Womer R., Devidas M., Krailo M., Wang C., Bernstein M., et al. Dose-intensified compared with standard chemotherapy for nonmetastatic Ewing sarcoma family of tumors: a Children's Oncology Group study. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2536–41.
11. Womer R.B., West D.C., Krailo M.D., Dickman P.S., Pawel B.R., Grier H.E., et al. Randomized controlled trial of interval-compressed chemotherapy for the treatment of localized Ewing sarcoma: a report from the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol* 2012; 30 (33): 4148–54.
12. Paulussen M., Craft A.W., Lewis I., Hackshaw A., Douglas C., Dunst J., et al. Results of the EICESS-92 Study: two randomized trials of Ewing's sarcoma treatment – cyclophosphamide compared with ifosfamide in standard-risk patients and assessment of benefit of etoposide added to standard treatment in high-risk patients. *J Clin Oncol* 2008; 26: 4385–93.
13. Juergens C., Weston C., Lewis I., Whelan J., Paulussen M., Oberlin O., et al. Safety assessment of intensive induction with vincristine, ifosfamide, doxorubicin and etoposide (VIDE) in the treatment of Ewing tumors in the EURO-E.W.I.N.G. 99 clinical trial. *Pediatr Blood & Cancer* 2006; 47: 22–9.
14. Киселёв Л.П., Савицкая Т.В., Липай Н.В., Алейникова О.В. TFP12, VEGFA165 и VEGFA189 как независимые факторы прогноза локализованных форм саркомы Юинга. *Онкологический журнал (Минск, Республика Беларусь)*, 2016; 10: 93–100.
15. Raney R.B., Anderson J.R., Barr F.G., Donaldson S.S., Pappo A.S., Qualman S.J., et al. Rhabdomyosarcoma and undifferentiated sarcoma in the first two decades of life: a selective review of Intergroup Rhabdomyosarcoma Study Group experience and rationale for Intergroup Rhabdomyosarcoma Study V. *J Pediatr Hematol Oncol* 2001; 23: 215–20.

Глиобластомы подкорковых узлов у детей: приговор или нет?

М.В. Рыжова¹, Ш.У. Кадыров¹, Э.В. Кумирова²

¹ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. академика Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва

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

Статья посвящена проблеме гистологической и молекулярной диагностики таламических глиобластом у детей. В представленном обзоре литературы авторы обсуждают необходимость новых подходов к лечению подобных опухолей.

Ключевые слова: глиобластома подкорковых узлов, диффузная срединная глиома с мутацией H3 K27M.

Контактная информация:

Рыжова Марина Владимировна,
д-р мед. наук, зав. патологоанатомическим отделением НМИЦ нейрохирургии им. академика Н.Н. Бурденко Минздрава России.
Адрес: 125047, Москва, ул. 4-я Тверская-Ямская, 16
Тел.: +7 (903) 710-5363
E-mail: mrizhova@nsi.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-4-51-55

Thalamic glioblastomas in children: a doom or not?

M.V. Ryzhova¹, Sh.U. Kadyrov¹, E.V. Kumirova²

¹N.N. Burdenko National Medical Research Center Neurosurgical Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

²Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

This review article deals with the histological and molecular diagnosis of thalamic glioblastomas in children, authors discuss the need of new approaches to the treatment of such tumors.

Key words: thalamic glioblastoma, diffuse midline glioma, H3 K27M-mutant.

Correspondence:

Marina V. Ryzhova, MD, doctor of medical sciences, the head of the Department of Neuropathology, N.N. Burdenko National Medical Research Center Neurosurgical Ministry of Healthcare of Russian Federation.
Address: 125047, Russia, 4-ya Tverskaya-Yamskaya, 16 st.,
Tel.: +7 (903) 710-5363
E-mail: mrizhova@nsi.ru

В последние десятилетия благодаря молекулярно-генетическим исследованиям злокачественных опухолей центральной нервной системы (ЦНС) нейроонкология шагнула далеко вперед: достигнуты успехи в лечении медуллобластомы, которую ранее считали инкурабельным заболеванием, изучены благоприятные подгруппы глиобластом; выявлены ключевые повторяющиеся мутации, имеющие важное диагностическое и прогностическое значение и открывающие прямой путь к таргетной терапии [1–3].

Еще одним важным моментом в развитии детской нейроонкологии можно считать выделение в 2016 году диффузной срединной глиомы с мутацией гена *H3F3A K27M* в отдельную нозологическую единицу [4].

Однако в реальной рутинной практике ведения и лечения пациентов (особенно детского возраста) со злокачественными глиомами наблюдается непреодолимая пропасть между знаниями о биологии опухолей и существующими протоколами лечения. Как и ранее, для лечения абсолютно разных в молекулярном плане детских и взрослых глиобластом применяются протоколы, разработанные для опухолей у взрослых. Кроме того, добавление таргетных препаратов к существующим протоколам может увеличить

токсичность терапии, что отнюдь не поспособствует повышению качества жизни обреченных детей со злокачественными глиомами подкорковых узлов [5].

И наконец, самым важным представляется постановка правильного гистологического диагноза. Согласно критериям, установленным в текущей классификации опухолей ЦНС Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) издания 2016 года [4], глиобластома представляет собой наиболее частую первичную опухоль головного мозга и наиболее злокачественную опухоль с преимущественной астроцитарной дифференцировкой. Гистологические признаки глиобластомы: ядерная атипия, клеточный полиморфизм (или плеоморфизм, включающий в себя мелкие, недифференцированные, липидизированные, гранулярные и гигантские клетки), митотическая активность, микроваскулярная пролиферация (пролиферация эндотелия сосудов), тромбозы сосудов и некрозы. Для срединных глиом рекомендуется исследование мутационного статуса гена *H3F3A K27M* путем прямого секвенирования; опухоли, имеющие мутацию *K27M*, по сравнению с диким типом этого гена демонстрируют худшие показатели выживаемости и склонны к метастазированию [2–4].

В нашем небольшом исследовании было поставлено несколько целей: во-первых, мы хо-

тели заострить ваше внимание на достаточно сложной и актуальной проблеме правильной гистологическо-молекулярной диагностики злокачественных опухолей у детей; во-вторых – показать, что неудачи использования текущего протокола лечения глиобластом таламуса вполне объяснимы и ожидаемы, учитывая молекулярные особенности этих опухолей, – злокачественные глиомы подкорковых узлов с мутацией гена имеют *H3F3A K27M*, во всех случаях сочетаются с метилированным *MGMT*, что, возможно, и объясняет отсутствие лечебного эффекта от темозоломида.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В наше исследование были включены 15 пациентов с глиобластомами подкорковых узлов, оперированных в ННПЦН им. акад. Н.Н. Бурденко Минздрава России в период с 2005 по 2015 год. Среди этих пациентов было 7 мальчиков и 8 девочек в возрасте от 4 до 19 лет; четыре пациента были старше 16 лет. Степень резекции: в 12 случаях опухоль была удалена субтотально; три опухоли удалось удалить полностью. После верификации опухоли и установления гистологического диагноза пациенты получили химиолучевое лечение на базах Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава РФ, Российской детской клинической больницы Минздрава России, Морозовской детской городской клинической больницы Департамента здравоохранения г. Москвы, НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, Научно-исследовательского института нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко или, после консультации онколога, по месту жительства с использованием протокола HIT-HGG-2007 или предыдущей его версии HIT-HGG-2000. Согласно протоколу HIT-HGG-2007 детям от 3 до 18 лет после максимально безопасно радикального удаления опухоли и стадирования процесса при M0 стадии проводили локальную лучевую терапию в СОД до 54 Гр. Параллельно с лучевой терапией проводили монокимиотерапию препаратом темозоломид в дозе 75 мг/м²/сут ежедневно. Через 4 недели после лучевой терапии проводили консолидирующую монокимиотерапию – 12 пятидневных циклов темозоломида каждые 28 дней в дозе 150–200 мг/м²/сут. Контроль ответа на терапию (МРТ головного мозга) выполняли перед началом монокимиотерапии и после каждого четного цикла темозоломида.

Молекулярно-генетическое исследование (изучение мутационного статуса генов *H3F3A*, *IDH1*, *BRAF* и метилирования *MGMT*) удалось выполнить в опухоли у 10 пациентов на базе *German Cancer Research Center* (DKFZ). Флуоресцентную гибридизацию *in situ* для оценки количественных измене-

ний генов *PDGFRA* и локуса 10q проводили в ННПЦН им. академика Н.Н. Бурденко Минздрава России.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Катамнестические данные известны у 14 пациентов: 10 пациентов скончались в сроки от 5 до 24 мес. после операции; одна пациентка находилась в тяжелом состоянии с прогрессией заболевания в виде метастазирования через 12 мес. после операции; трое пациентов были живы 15, 24 и 50 мес. соответственно без признаков прогрессии заболевания.

В 10 из 15 случаев опухолевого материала было достаточно для проведения следующих молекулярно-генетических исследований.

1. Мутационный статус гена *H3F3A* – мутация *K27M* выявлена в 8 случаях; среди 8 пациентов, чьи опухоли имели мутацию *K27M*, только двое были живы с рецидивом опухоли через 15 и 24 мес. после операции. В двух опухолях мутация *K27M* отсутствовала – одна из пациенток оставалась жива без прогрессии заболевания спустя 50 мес. после операции; катамнестические данные по второму пациенту с диким типом *K27M*, к сожалению, отсутствовали (это единственный из 15 пациентов без катамнестических данных).

2. Мутационный статус гена *IDH1* – все 10 опухолей имели дикий немутированный тип гена.

3. Количественные изменения в хромосомах:

- потеря 10q выявлена в 5 из 10 исследованных опухолей: в трех случаях потеря 10q сочеталась с мутацией *K27M* – все трое пациентов скончались (через 6, 7 и 21 мес. после операции); в двух других случаях потеря 10q сочеталась с диким типом *K27M* (данные о пациентах указаны выше).

- амплификация генов *PDGFRA* выявлена в двух опухолях: в одном случае она сочеталась с мутацией *K27M* (пациент скончался через 21 мес.), во втором случае катамнестические данные отсутствуют.

4. Исследование статуса метилирования гена *MGMT* – во всех 10 случаях выявлен метилированный ген *MGMT*.

5. Двум пациентам с отсутствием мутации *K27M* было проведено секвенирование гена *BRAF V600E*; мутация гена *BRAF V600E* выявлена у 19-летней пациентки с общей выживаемостью в 50 мес.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Бесценный опыт наблюдения и лечения пациентов со злокачественными глиомами подкорковых узлов, годами накапливаемый в ННПЦН им. акад. Н.Н. Бурденко Минздрава России, и появле-

ние новых данных о молекулярных особенностях этих опухолей заставляют нас переосмысливать и пересматривать алгоритмы лечения подобных опухолей.

Первый вопрос, который задает себе нейрохирург: нужно ли оперировать глиому таламуса? Для редких диффузно растущих билатеральных глиобластом общепринятая тактика – биопсии опухоли с назначением лечебной химиотерапии, так как удаление опухоли только ухудшает прогноз [6]. Злокачественные глиомы с односторонним поражением таламуса (как в нашей серии) имеют инфильтративный рост, в большинстве случаев удается добиться лишь субтотального удаления опухоли. В нашей небольшой серии (15 наблюдений) были живы трое пациентов; одна девочка, 4 года, с метастазированием, находилась на момент окончания сбора казначественных данных в очень тяжелом состоянии. Учитывая злокачественную природу глиобластом таламуса, продолженный рост и метастазирование на фоне проводимого лечения, неблагоприятный исход заболевания, возникает вопрос о необходимости хирургического удаления подобных опухолей. Стоит ли подвергать маленьких, по большому счету обреченных пациентов операции, которая может привести к грубой инвалидизации? И если да, то улучшит ли удаление опухоли прогноз у этих пациентов? Единственная ситуация с четким показанием к операции – это получение опухолевого материала для научных исследований и изготовления вакцины. В настоящий момент в нейроонкологии «изготовление вакцины» – это процесс получения опухолевого материала, исследование опухоли методом полного геномного секвенирования и попытка создания таргетных препаратов к выявленным мутациям генов. Имеется и другое определение термина «вакцина» – при удалении рецидива опухоли часть материала используют для создания иммуопрепарата.

В 2011 году на встрече в Париже при мультидисциплинарном обсуждении подхода к хирургическому лечению детских злокачественных глиом был достигнут консенсус: в случае, когда невозможно провести тотальное удаление опухоли, необходимо ограничиться биопсией либо частичным или субтотальным удалением с последующим назначением химиотерапии и повторной операцией по удалению остаточной опухоли после получения адекватного лечения [7].

Следующий важный аспект – корректный нейропатологический диагноз [8, 9]. Благодаря проведению молекулярных исследований в последнее время установлено, что под маской злокачественной глиомы скрывается большое количество нозологических форм, идентичных гистологически, но различных молекулярно и прогностически [10]. Поэтому исследование мутации гена *H3F3A* K27M, характерной для срединных глиом, следует производить в обяза-

тельном порядке. Причем методом выбора является прямое секвенирование гена, а не иммуногистохимическое исследование, зачастую показывающее некорректные результаты [9]. Кроме того, выявление дикого немутантного типа *H3F3A* K27M должно сподвигнуть нас на дальнейшее исследование мутационного статуса гена *BRAF*, поскольку мутации генов *H3F3A* K27M и *BRAF* являются взаимоисключающими и способствуют правильной диагностике опухолей. В последнее время появились работы, в которых сообщается, что профиль анапластической плеоморфной ксантоастроцитомы могут иметь опухоли даже у младенцев; подобные опухоли могут развиваться в любом месте ЦНС, включая таламус и спинной мозг [10]. В нашей серии наблюдений у единственной пациентки с длительной выживаемостью (50 мес.) опухоль имела мутацию гена *BRAF* V600E – в ее случае диагноз «глиобластома» после проведения прямого секвенирования был изменен на «анапластическая плеоморфная ксантоастроцитома».

Правильной диагностике способствует также исследование количественных изменений хромосом или изменения количества копий генов-супрессоров и онкогенов, встречающихся в глиобластомах и не возникающих в других астроцитарных глиомах таламуса – амплификациях генов *MYCN*, *PDGFRA* и *EGFR* [11].

Подкорковые ганглии – особая локализация, спектр развивающихся в них опухолей относительно невелик и включает в основном астроцитарную патологию с редкими герминативно-клеточными опухолями [12]. В некоторых случаях при малом количестве материала провести дифференциальный диагноз между пилоидной астроцитомой с некрозами, анапластической плеоморфной ксантоастроцитомой и глиобластомой очень сложно из-за гистологического сходства этих опухолей. Единственный, за исключением молекулярного исследования, подтверждающий критерий правильной постановки диагноза – продолжительность жизни пациента. Так называемые «дети-долгожители» с глиобластомами на самом деле имеют анапластическую плеоморфную ксантоастроцитому или даже пилоидную астроцитому с некротическими изменениями (единственная пациентка ННПЦН им. акад. Н.Н. Бурденко Минздрава России с пилоидной астроцитомой с некрозами жива спустя 6 лет после операции, в данное исследование она не включена). Подтвердить диагноз «пилоидная астроцитома» возможно при обнаружении слияния генов *BRAF-KIAA* с использованием метода секвенирования [13].

Правильный нейропатологический диагноз по определению должен привести к выбору корректного протокола лечения, снизить экономические потери от неправильного лечения после неправильной

первичной диагностики. Это снова возвращает нас к вопросу о повышении стоимости и качества диагностики детских злокачественных опухолей за счет как минимум прямого секвенирования, а не иммуногистохимического исследования, показывающего противоречивые результаты и приводящего к неправильной диагностике [14].

Однако при попытке выбора правильного протокола лечения нас ожидает очередной подводный камень: во-первых, все найденные в литературе протоколы не содержат разделения на взрослые и детские глиобластомы и основываются на трех основных маркерах – IDH1/IDH2, 1p19q и MGMT [15, 16]. В последнее время стало известно, что детские таламические глиобластомы не имеют мутации генов *IDH1/IDH2*, не имеют кооперативной делеции 1p19q и всегда имеют неметилированный статус гена *MGMT* [17], что подтвердило и наше небольшое исследование. Таким образом, назначение онкологами исследования этих трех нарушений в глиобластомах подкорковых узлов выглядит абсолютно бессмысленным, а главное, очень сложно при подобных молекулярных особенностях ожидать хорошего ответа опухоли на лечение по стандартному протоколу с темозоломидом и лучевой терапией. Очевидно, что глиобластомы таламуса следует лечить совершенно иначе. Разработка таргетных препаратов для мутации гена H3F3A K27M [18–20] только начинается, но уже сегодня существуют и более-менее успешно применяются протоколы высокодозной химиотерапии с метотрексатом и тиотепой, некоторую роль играют иммунотерапия и таргетные препараты к амплификациям MYCN и PDGFRA [18, 21–24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наши знания о биологии детских таламических глиобластом значительно расходятся с нашими возможностями по ведению таких пациентов. Назрела острая необходимость в обсуждении, достижении консенсуса и принятии нейроонкологами нового протокола лечения глиобластом подкорковых узлов с учетом генетических особенностей опухоли. Очевидно, что необходимо улучшить также и качество гистологической диагностики за счет включения в алгоритм исследования детских таламических глиобластом изучение мутационного статуса гена H3F3A K27M методом прямого секвенирования. В настоящий момент согласно рекомендациям классификации ВОЗ опухолей ЦНС от 2016 года для обозначения подобных опухолей следует использовать термин «диффузная срединная глиома с мутацией H3 K27M WHO Grade IV».

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

М.В. Рыжова <http://orcid.org/0000-0001-7206-6365>

Ш.У. Кадыров <http://orcid.org/0000-0001-5879-1333>

Э.В. Кумирова <http://orcid.org/0000-0001-6125-2410>

Литература

1. Taylor M.D., Northcott P.A., Korshunov A., Remke M., Cho Y.J., Clifford S.C., et al. Acta Neuropathol 2012; 123 (4): 465–72.
2. Schwartzentruber J., Korshunov A., Liu X.Y., Jones D.T., Pfaff E., Jacob K., et al. Driver mutations in histone H3.3 and chromatin remodelling genes in paediatric glioblastoma. Nature 2012; 482 (7384): 226–31.
3. Sturm D., Witt H., Hovestadt V., Khuong-Quang D.A., Jones D.T., Konermann C., et al. Hotspot mutations in H3F3A and IDH1 define distinct epigenetic and biological subgroups of glioblastoma. Cancer Cell 2012; 22 (4): 425–37.
4. Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., Cavenee W.K. (Eds.): WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System (Revised 4th edition). IARC: Lyon 2016.
5. MacDonald T.J., Aguilera D., Kramm C.M. Treatment of high-grade glioma in children and adolescents. Neuro Oncol 2011; 13 (10): 1049–58.
6. Кадыров Ш.У., Коновалов А.Н., Хухлаева Е.А., Горелышев С.К., Кобяков Г.Л., Трунин Ю.Ю. и соавт. Диффузные билатеральные астроцитомы у детей и взрослых. Вопросы нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко 2012; 76 (6): 14–9.
7. Walker D.A., Liu J., Kieran M., Jabbado N., Picton S., Packer R., et al. CPN Paris 2011 Conference Consensus Group. A multi-disciplinary consensus statement concerning surgical approaches to low-grade, high-grade astrocytomas and diffuse intrinsic pontine gliomas in childhood (CPN Paris 2011) using the Delphi method. Neuro Oncol 2013; 15 (4): 462–8.
8. Eisenstat D.D., Pollack I.F., Demers A., Sapp M.V., Lambert P., Weisfeld-Adams J.D., et al. Impact of tumor location and pathological discordance on survival of children with midline high-grade gliomas treated on Children's Cancer Group high-grade glioma study CCG-945. J Neurooncol 2015; 121 (3): 573–81.
9. Hales R.K., Shokek O., Burger P.C., Paynter N.P., Chaichana K.L., Quiñones-Hinojosa A. et al. Prognostic factors in pediatric high-grade astrocytoma: the

- importance of accurate pathologic diagnosis. J Neurooncol 2010; 99 (1): 65–71.
10. Korshunov A., Ryzhova M., Hovestadt V., Bender S., Sturm D., Capper D., et al. Integrated analysis of pediatric glioblastoma reveals a subset of biologically favorable tumors with associated molecular prognostic markers. Acta Neuropathol 2015; 129 (5): 669–78.
 11. Kramm C.M., Butenhoff S., Rausche U., Warmuth-Metz M., Kortmann R.D., Pietsch T., et al. Thalamic high-grade gliomas in children: a distinct clinical subset? Neuro Oncol 2011; 13 (6): 680–9.
 12. Коновалов А.Н., Кадыров Ш.У., Тарасова Е.М., Мазеркина Н.А., Горелышев С.К., Хухлаева Е.А. и соавт. Герминомы подкорковых узлов у детей. 4 клинических случая и обзор литературы. Вопросы нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко 2016; 80(1): 71–82.
 13. Collins V.P., Jones D.T., Giannini C. Pilocytic astrocytoma: pathology, molecular mechanisms and markers. Acta Neuropathol 2015; 129 (6): 775–88.
 14. Hoffman L.M., DeWire M., Ryall S., Buczkowicz P., Leach J., Miles L., et al. Spatial genomic heterogeneity in diffuse intrinsic pontine and midline high-grade glioma: implications for diagnostic biopsy and targeted therapeutics. Acta Neuropathol Commun 2016; 4: 1.
 15. Weller M., van den Bent M., Hopkins K., Tonn J.C., Stupp R., Falini A., et al. European Association for Neuro-Oncology (EANO) Task Force on Malignant Glioma. EANO guideline for the diagnosis and treatment of anaplastic gliomas and glioblastoma. Lancet Oncol 2014; 15 (9): 395–403.
 16. Weller M., Pfister S.M., Wick W., Hegi M.E., Reifenberger G., Stupp R. Molecular neuro-oncology in clinical practice: a new horizon. Lancet Oncol 2013; 14 (9): 370–9.
 17. Jones C., Karajannis M.A., Jones D.T., Kieran M.W., Monje M., Baker S.J., et al. Pediatric high-grade glioma: biologically and clinically in need of new thinking. Neuro Oncol 2016; pii: now101.
 18. Fangusaro J. Pediatric high grade glioma: a review and update on tumor clinical characteristics and biology. Front Oncol 2012; 2: 105.
 19. Kallappagoudar S., Yadav R.K., Lowe B.R., Partridge J.F. Histone H3 mutations-a special role for H3.3 in tumorigenesis? Chromosoma 2015; 124 (2): 177–89.
 20. Staedtke V., Bai R.Y., Laterra J. Investigational new drugs for brain cancer. Expert Opin Investig Drugs 2016; 25 (8): 937–56.
 21. Marachelian A., Butturini A., Finlay J. Myeloablative chemotherapy with autologous hematopoietic progenitor cell rescue for childhood central nervous system tumors. Bone Marrow Transplant 2008; 41 (2): 167–72.
 22. Massimino M., Gandola L., Luksch R., Spreafico F., Riva D., Solero C., et al. Sequential chemotherapy, high-dose thiotepa, circulating progenitor cell rescue, and radiotherapy for childhood high-grade glioma. Neuro Oncol 2005; 7 (1): 41–8.
 23. Vanan M.I., Eisenstat D.D. Management of high-grade gliomas in the pediatric patient: Past, present, and future. Neurooncol Pract 2014; 1 (4): 145–57.
 24. Wagner S., Reinert C., Schmid H.J., Liebeskind A.K., Jorch N., Längler A., et al. High-dose methotrexate prior to simultaneous radiochemotherapy in children with malignant high-grade gliomas. Anticancer Res 2005; 25 (3c): 2583–7.



Защита со всех сторон

Лечение для пациентов с дефицитом факторов протромбинового комплекса с минимальным риском передачи инфекционных заболеваний^{1,2,3}

Дата подготовки 16.10.2017
C-APROM/RUS/0401

Протромплекс 600

Краткое описание

Регистрационный номер: ЛСР-010486/08-190917. **Международное непатентованное или группировочное название:** Факторы свертывания крови II, VII, IX и X в комбинации (Протромбиновый комплекс). **Лекарственная форма:** Лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения. **Состав:** Активные вещества: фактор свертывания крови II – 600 ME, VII – 500 ME, IX – 600 ME, X – 600 ME, протромбин C – не менее 400 ME. Вспомогательные вещества: натрия цитрата дигидрат 80 мг, натрия хлорид 160 мг, глицерин натрия не более 0,5 ME (гепарин) ME фактора IX, антитромбин III 15-30 ME. Флакон с раствором содержит 20 мл воды для инъекций. **Форма выпуска:** Лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения, по одному флакону с препаратом в комплекте с одним флаконом растворителя, иглой для переноса, иглой-фильтром, воздушной иглой, одноразовой иглой для инъекций и иглой «бабочкой» для трансфузии вместе с инструкцией по применению помещают в картонную пачку. **Фармакотерапевтическая группа:** Гемостатическое средство. **Код АТХ:** B02BD01. **Показания:** Лечение и профилактика кровотечений при оперативных вмешательствах у пациентов с приобретенным дефицитом факторов протромбинового комплекса, например при дефиците, вызванном лечением антагонистами витамина K или передозировкой антагонистов витамина K, в случае, когда требуется быстрая коррекция дефицита. Лечение и профилактика кровотечений при оперативных вмешательствах у пациентов с врожденным дефицитом одного из витаминов K-зависимых факторов свертывания, в тех случаях, когда недоступен монокомпонентный препарат дефицитного фактора свертывания. **Противопоказания:** Гиперчувствительность к активному ингредиенту или к любому из вспомогательных веществ. Алергия на гелин или гелин-индуцированная тромбоцитопения в анамнезе. **С осторожностью:** Пациенты, имеющие в анамнезе ишемическую болезнь сердца, инфаркт миокарда, заболевания печени. Послеоперационный период. Новорожденные. Пациенты с высоким риском развития тромбозов или синдромом диссеминированного внутрисосудистого свертывания. **Способ применения и дозы:** Разовую дозу и частоту введения устанавливает индивидуально, с учетом исходных показателей системы свертывания, локализации и выраженности кровотечения, клинического состояния пациента. **Приготовление раствора и его введение:** содержимое флакона с лиофилизатом растворяют непосредственно перед введением. С этой целью необходимо использовать только прилагаемый набор для растворения и введения (см. Инструкцию по применению). **Побочное действие:** Со стороны кровеносной и лимфатической системы: диссеминированное внутрисосудистое свертывание; развитие ингибиторов одного или нескольких факторов свертывания крови (факторы II, VII, IX, X). Со стороны иммунной системы: анафилактический шок, анафилактические реакции, реакции гиперчувствительности (см. Инструкцию по применению). **Передозировка:** Случаи передозировки препаратов протромбинового комплекса человека, в том числе препарата Протромплекс 600, свидетельствуют о риске развития тромбоза и диссеминированного внутрисосудистого свертывания. Риск может быть выше при лечении изолированной недостаточности фактора VII, так как другие витамины K-зависимые факторы свертывания с более длительным периодом полувыведения могут накапливаться до уровней существенно превышающих нормальные (см. Инструкцию по применению). **Условия отпуска:** По рецепту.

За полной информацией о препарате обращайтесь к Инструкции по применению.

1. Инструкция по медицинскому применению препарата Протромплекс 600. 2. Committee for Proprietary Medicinal Products EEC Regulatory Document Note for Guidance. Validation of Virus Removal and Inactivation Procedures. Biologicals 1991; 19:247-251. 3. www.pptglobal.org/regions/europe

ООО «Шайер Биотех Рус»
119021 г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 11, стр. 1, этаж 6,
помещение 1, ком. №№ 6, 8, 12.
Телефон: +7 495 787 04 77. Факс: +7 495 787 04 78
www.shire.com

Shire

Особенности органосохраняющей шейной лимфодиссекции при злокачественных образованиях головы и шеи у детей

Н.С. Грачёв, И.Н. Ворожцов, Н.В. Бабаскина, Е.Ю. Ярёмченко

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

Контактная информация:

Грачёв Николай Сергеевич, канд. мед. наук, зав. отделением онкологии и детской хирургии НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.

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

E-mail: nick-grachev@yandex.ru

С января 2012 по июль 2017 года в отделении онкологии и детской хирургии НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России лимфодиссекция шеи проведена 63 пациентам: 36 (57,1%) из них вошли в группу I с диагнозом «новообразование щитовидной железы»; 27 (42,9%) с образованиями головы и шеи иной локализации – в группу II. Всем пациентам проведены органосохраняющие лимфодиссекции различного уровня с удалением лимфоузлов «единым блоком» с жировой клетчаткой. В группе I было выявлено статистически значимое более частое метастатическое поражение лимфоузлов шеи ($p < 0,01$) при меньшем числе осложнений ($p < 0,05$), более длительном безрецидивном периоде и лучших исходах ($p < 0,01$). Таким образом, при лечении злокачественных образований области головы и шеи у детей новообразования щитовидной железы можно выделить в отдельный класс, в котором прецизионная лимфодиссекция имеет особое значение как самостоятельный метод лечения и профилактики метастатического поражения лимфоузлов шеи, что особенно важно у детей. При новообразованиях головы и шеи иной локализации лимфодиссекция является качественным вспомогательным методом лечения.

Ключевые слова: лимфодиссекция, дети, опухоли головы и шеи, рак щитовидной железы, селективная лимфодиссекция.

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-4-56-61

Organ sparing neck dissection for the treatment of head and neck cancers in children

N.S. Grachev, I.N. Vorozhtsov, N.V. Babaskina, E.Yu. Iaremenko

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

A retrospective analysis was made in 63 patients who undergone the examination and treatment in Dmitry Rogachev National Research Center between January 2012 and August 2017. In the retrospective series 36 (57.1%) patients who underwent neck dissection for thyroid cancer and 27 (42.9%) head and neck cancer patients of other primary site. All patients underwent organ-preserving block neck dissection. We detected statistically significantly more frequent metastatic lesion of the lymph nodes ($p < 0.01$), with fewer complications ($p < 0.05$), long-term disease-free survival and better outcomes ($p < 0.01$). Thus, thyroid cancer can be isolated into a separate class in which precision lymphodissection is of particular importance as an independent method of therapy and preventive treatment of metastatic involvement of the neck lymph nodes in head and neck cancer. It is especially important in children. As for other head and neck tumors, neck dissection is a secondary method of combined therapy.

Key words: lymphodissection, children, head and neck tumors, thyroid cancer, precision lymphodissection.

Проблема метастатического поражения зон регионарного лимфооттока при опухолях головы и шеи остается актуальной в области детской онкологии, но мало освещенной, несмотря на успехи в лечении злокачественных образований данной локализации [1]. Метастазы в лимфоузлы шеи – важный прогностический критерий: их наличие является частой причиной снижения показателей выживаемости и качества жизни пациентов. Один из основных методов лечения и диагностики регионарных метастазов – шейная лимфодиссекция [2] в различных ее вариантах, относящаяся к числу широко распространенных и в то же время сложных хирургических пособий с высоким риском развития

осложнений [3–5]. Подобные вмешательства особенно тяжелы для пациентов детского и подросткового возраста и требуют высокой квалификации детского хирурга-онколога [6].

Цель данного исследования: изучение особенностей органосохраняющей шейной лимфодиссекции при опухолях различной локализации головы и шеи у детей и подростков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа в отделении онкологии и детской хирургии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева организована согласно системе, разработанной Комитетом по

классификации шейной диссекции Американского общества головы и шеи [7]. Существуют различные варианты номенклатуры и классификации уровней и подуровней шейных лимфоузлов; мы предпочитаем использовать понятие «селективная лимфодиссекция» (СЛД) с указанием уровней и подуровней удаляемых лимфоузлов.

С января 2012 по июль 2017 года в отделении онкологии и детской хирургии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева лимфодиссекция шеи была проведена 63 пациентам: 36 (57,1%) из них вошли в *группу I* с диагнозом «новообразование щитовидной железы»; 27 (42,9%) с образованиями головы и шеи иной локализации – в *группу II*. Сравнительная характеристика пациентов, входящих в обе группы, представлена в *таблице*. В группах были выявлены статистически значимые различия по гендерному соотношению, количеству пациентов младше 10 лет, количеству пациентов со спаянными с прилежащими тканями лимфоузлами. При этом у пациентов из группы I не была представлена предоперационная консервативная терапия (химиотерапия или химиотерапия + радиотерапия).

Всем пациентам проведены органосохраняющие операции: модифицированная радикальная шейная диссекция и селективная диссекция лимфоузлов различных уровней.

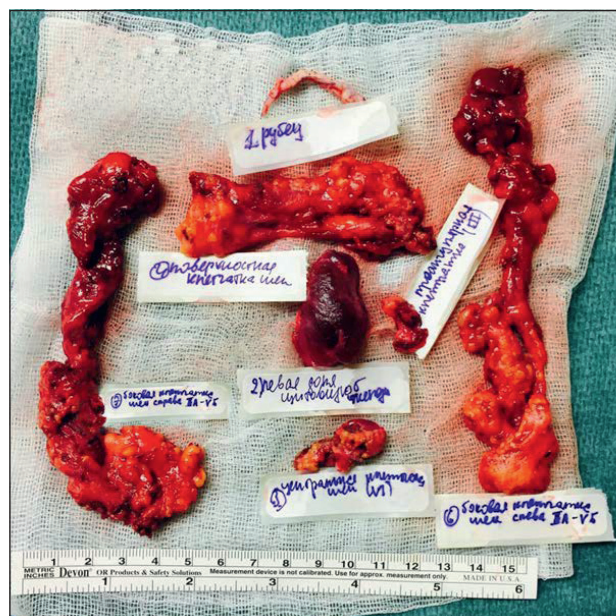
Важная особенность лимфодиссекции – ее многофункциональная роль: не только лечебная или профилактическая, но и диагностическая функция. Так, лимфоузлы должны быть удалены хирургом «единым блоком» с жировой клетчаткой (*рис. 1*), сосудистые и нервные структуры – бережно выделены и сохранены. Однако подготовка операционного материала к плановому гистологическому исследованию имеет ряд особенностей. Ввиду того что патоло-

ги при изучении препаратов не имеют ориентиров для самостоятельного определения группы лимфоузлов, хирурги нашего отделения после извлечения препарата «единым блоком» разделяют его на уровни и подуровни, прослеживая, чтобы каждый препарат был помещен в отдельную емкость и правильно обозначен. Во всех случаях проводили морфологическую верификацию новообразования из первичного очага и плановое гистологическое исследование операционного материала.

Мы проанализировали все исходы и осложнения, связанные с оперативным лечением. Был проведен кумулятивный анализ выживаемости пациентов и

Рисунок 1

Пример операционного материала при проведении сочетанной операции: билатеральной СЛД (II–V) совместно с СЛД (VI) и гемитиреоидэктомией (лимфоузлы с жировой клетчаткой удалены единым блоком)



Таблица

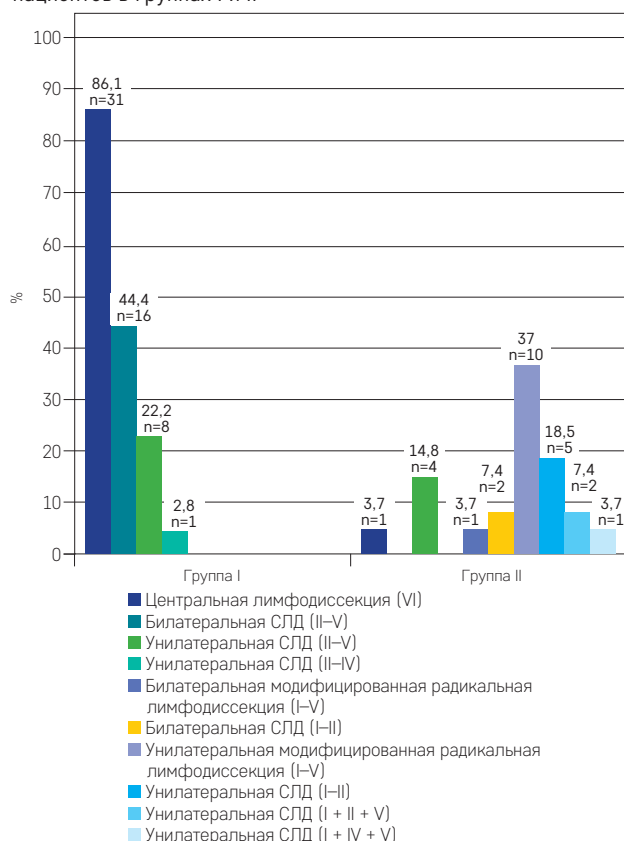
Характеристика пациентов на предоперационном этапе

Признак		Группа I	Группа II	p-value
Гендерное соотношение	девочки : мальчики	30 : 6 = 5 : 1	13 : 14 = 0,9 : 1	0,006*
Возраст пациентов	< 10 лет	6	19	0,001*
	> 10 лет	30	8	
Пальпация шейных ЛУ	подвижные	35	16	0,001*
	спаянные с прилежащими тканями	1	11	
Предоперационное обследование (УЗИ, МРТ, КТ)	поражен солитарный узел	3	2	1,000
	поражено > 1 лимфоузла	33	25	
	размер < 20 мм	13	10	1,000
	размер ≥ 20 мм	23	17	
Консервативное предоперационное лечение	химиотерапия	0	8	0,001*
	химиотерапия + радиотерапия	0	6	0,004*
	нет	36	13	0,001*

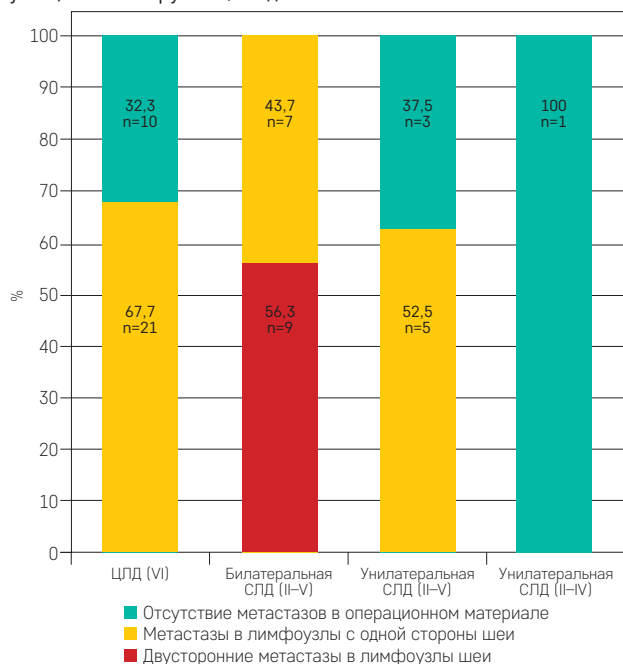
* Достоверность различий согласно двустороннему точному критерию Фишера.

Рисунок 2

Сравнительная характеристика объема лимфодиссекции у пациентов в группах I и II

**Рисунок 3**

Сопоставление объема лимфодиссекции и наличия метастазов у пациентов в группе I, по данным ПГИ



продолжительности безрецидивного периода согласно данным катамнеза на июль 2017 года.

Обработка данных выполнена при помощи статистического пакета *Statistica v.10.0.1011.6 StatSoft, Inc., 2011 (Oklahoma, USA)*.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В группе I наиболее часто выполняли центральную лимфодиссекцию (ЦЛД) – у 31 (86,1%) пациента; а также билатеральную – у 16 (44,4%) и унилатеральную – у 8 (22,2%) селективные лимфодиссекции (II–V уровни). Случай СЛД (II–IV уровни) у 1 (2,8%) пациента – результат диагностики опухоли неопределенного потенциала злокачественности. Сравнительная характеристика объема лимфодиссекции у пациентов обеих групп представлена на *рисунке 2*.

В группе II имело место большее разнообразие видов лимфодиссекции, включая модифицированную радикальную лимфодиссекцию (I–V уровни), проведенную 11 (40,7%) пациентам сообразно морфологической природе первичных новообразований. Во всех случаях проведено плановое гистологическое исследование удаленных препаратов, включая иммуногистохимию. Сопоставление объема лимфодиссекции и наличия метастазов в обеих группах представлено на *рисунках 3, 4*.

В группе I было выявлено статистически значимое более частое метастатическое поражение лимфоузлов шеи при проведении лимфодиссекции ($p = 0,00234$; $p < 0,01$). Сравнительная характеристика метастатического поражения лимфоузлов по уровням их расположения представлена на *рисунке 5*. Важно отметить, что в группе I наблюдалось частое (67,7%; $n = 21$) метастатическое поражение лимфоузлов подуровня Vb. При этом в группе I не были представлены метастатические поражения лимфоузлов I уровня, а в группе II – лимфоузлов VI уровня.

Характеристика интраоперационных и ранних послеоперационных осложнений в группах представлена на *рисунке 6*. Статистически значимое большее количество интраоперационных и ранних послеоперационных осложнений в группе II ($p = 0,031$; $p < 0,05$) мы связываем с более частым прорастанием анатомических структур конгломератами лимфатических узлов и иммунокомпрометированностью пациентов указанной группы. Сроки восстановления функции нервов в группе I составили менее 14 дней (нейропраксия) и менее 6 месяцев (аксонотмезис), что соответствует состоянию временного пареза. Медиана срока послеоперационной госпитализации в группе I составила 8 дней (от 4 до 14 дней), а в группе II – 12 дней (от 3 до 38 дней). В группе I статистически значимо ($p = 0,004$; $p < 0,01$) меньшее число пациентов находилось в отделении реанимации и интенсивной терапии – 10 (27,7%) и 20 (74,1%) соответственно. Мы связываем это с тяжестью основного заболевания и его хирургического лечения у пациентов группы II.

Рисунок 4

Сопоставление объема лимфодиссекции и наличия метастазов у пациентов группы II, по данным ПГИ

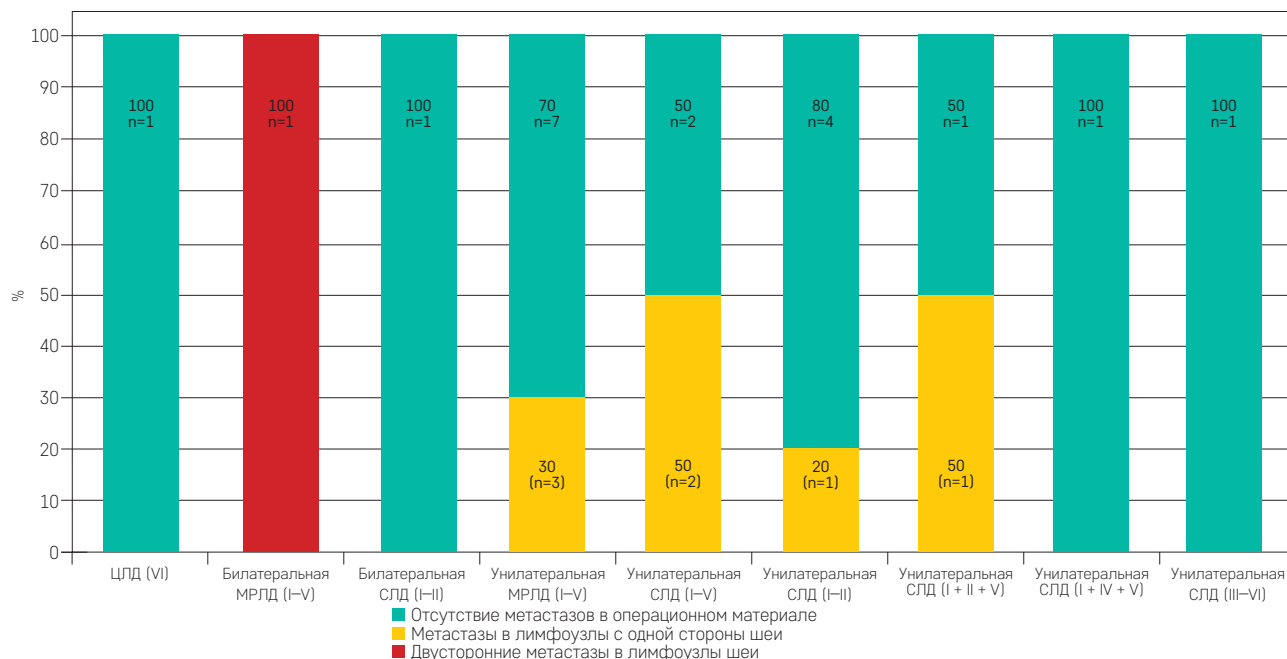


Рисунок 5

Сравнительная характеристика метастатического поражения лимфоузлов по уровням их расположения у пациентов в группах I и II

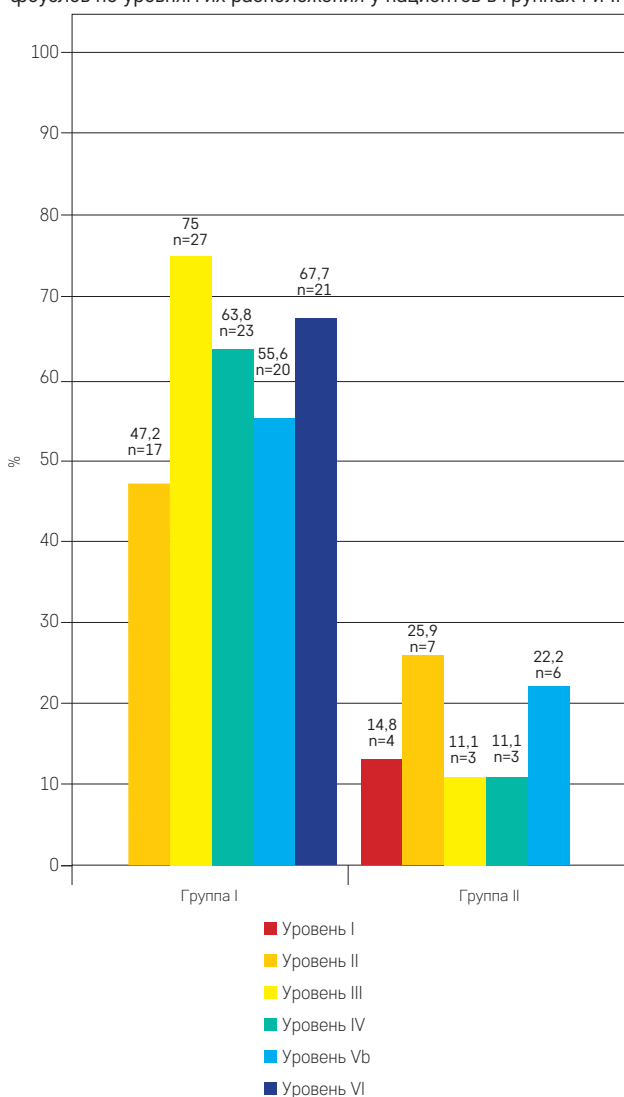


Рисунок 6

Сравнительная характеристика интраоперационных и ранних послеоперационных осложнений у пациентов в группах I и II

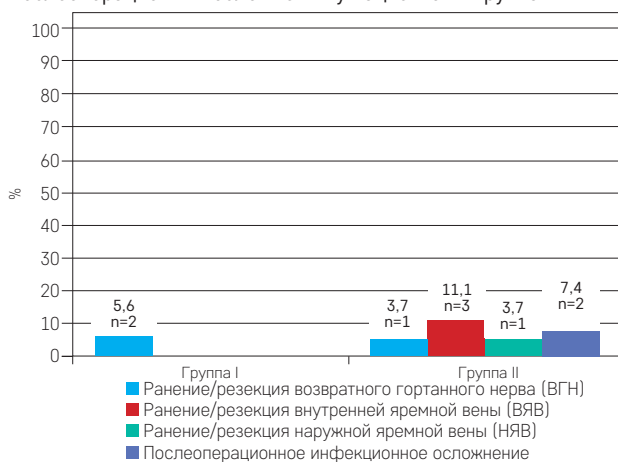


Рисунок 7

Кумулятивный анализ выживаемости и продолжительности безрецидивного периода у пациентов в группах I и II по результатам 5-летнего катамнеза на июль 2017 года

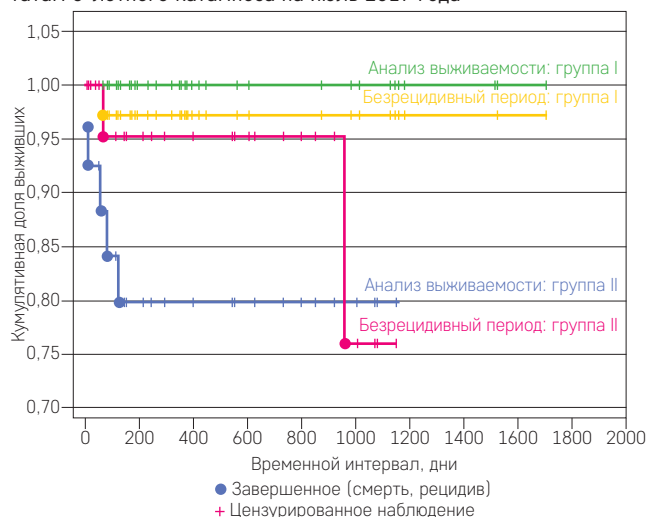
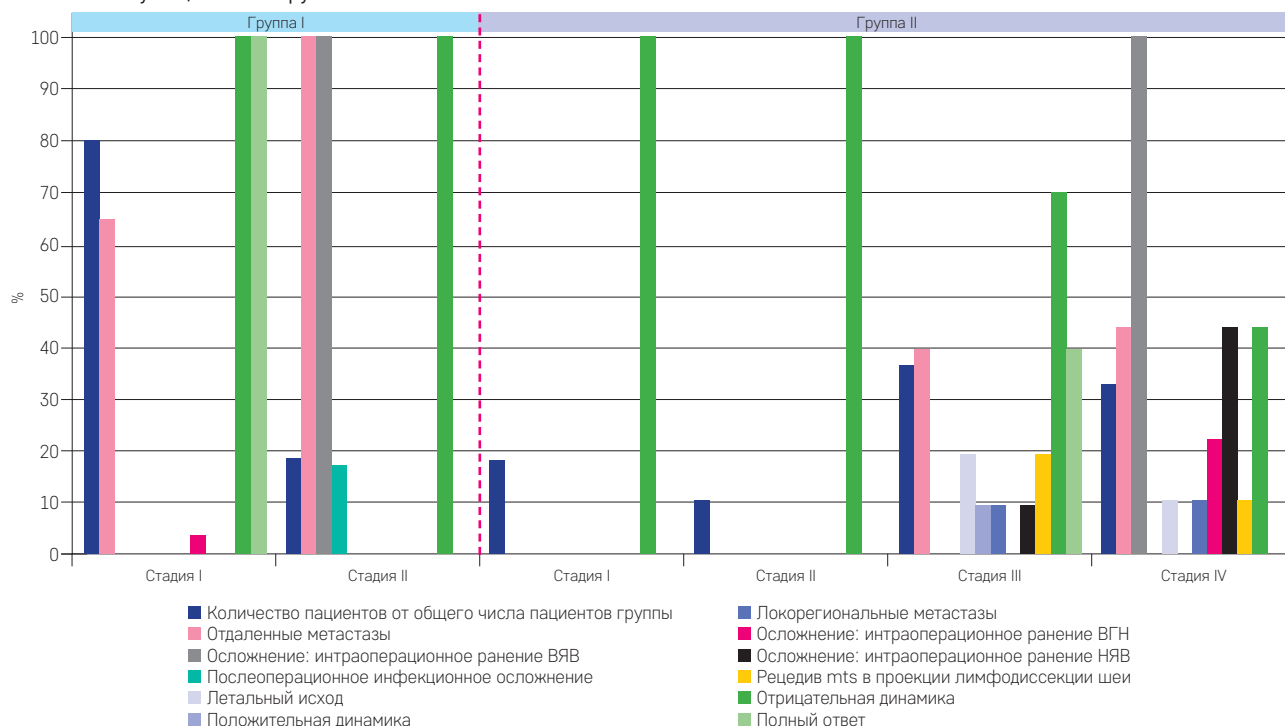


Рисунок 8

Сопоставление стадии заболевания, результатов ПГИ, интраоперационных и ранних послеоперационных осложнений и исходов заболевания у пациентов в группах I и II



Анализ выживаемости и продолжительности безрецидивного периода в группах представлен на рисунке 7. Наблюдаются достоверные отличия в группах ($p = 0,00837$; $p < 0,01$) по показателям выживаемости и продолжительности безрецидивного периода. В группе I не было летальных исходов, а в группе II было 5 (18,5%) случаев. Количество рецидивов в группах I и II – 2,8% ($n = 1$) и 7,4% ($n = 2$) соответственно (рис. 8).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе данного исследования была выявлена тенденция к преобладанию шейных лимфодиссекций по поводу новообразований щитовидной железы над лимфодиссекциями по поводу опухолей головы и шеи иных локализаций, что соответствует данным зарубежных коллег [8]. При этом гетерогенность указанных групп пациентов, включающая статистически значимые различия качественного состава пациентов и предоперационного лечения, позволяет дифференцировать лечебный подход.

Анализ выживаемости и продолжительности безрецидивного периода при сопоставлении с результатами планового гистологического исследования показали статистически значимое преимущество проведения лимфодиссекции при новообразованиях щитовидной железы (даже при наличии лимфоузлов малого диаметра). В то же время при новообразованиях иной локализации преимущественно проводи-

лось комбинированное лечение, а лимфодиссекцию выполняли по жизненным показаниям.

Должное представление операционного материала патологу, когда хирург выделяет из удаленного «единым блоком» материала уровни и подуровни групп лимфоузлов, имеет первостепенное значение, позволяя избежать некорректных заключений плановой гистологии, приводящих порой к ложному пути терапии основного заболевания. Таким образом, повышается диагностическая способность шейной лимфодиссекции, что подтверждают данные зарубежной литературы [7].

По опыту работы нашего отделения, при новообразованиях щитовидной железы в детском и подростковом возрасте метастазы в лимфоузлы уровня Vb встречаются чаще, чем у взрослых, что подтверждают данные литературы [9] и диктует необходимость проведения СЛД (II–V). В случае неуточненной локализации пораженных лимфоузлов при новообразованиях иной локализации следует отдавать предпочтение модифицированной радикальной лимфодиссекции, что соответствует данным литературы [10].

По нашему опыту и литературным данным, высокая частота наличия микрометастазов у пациентов с клинически N0 статусом [11]. Так, в условиях бессилия визуальных методов диагностики (УЗИ, КТ, МРТ) только прецизионная лимфодиссекция с последующими гистологическим и иммуногистохимическим исследованием препаратов позволяют грамотно оце-

нить статус пациента и направить врачей-онкологов по правильному пути терапии заболевания [12], что особенно важно для детей.

Выводы

Селективная лимфодиссекция (VI и II–V уровней) показала свою эффективность как самостоятельный метод лечения и профилактики метастатического поражения лимфоузлов шеи при новообразованиях щитовидной железы в детском и подростковом возрасте. При новообразованиях головы и шеи иной локализации лимфодиссекция является вспомогательным методом при комбинированном лечении согласно международным протоколам (сообразно морфологической природе новообразования). Особое внимание стоит уделять хирургической технике шейной лимфодиссекции и подготовке хирургом операционного

материала для патолога, что имеет первостепенное значение при лечении детей.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Н.С. Грачёв <http://orcid.org/0000-0002-4451-3233>

И.Н. Ворожцов <http://orcid.org/0000-0002-3932-6257>

Н.В. Бабаскина <http://orcid.org/0000-0003-4264-1423>

Е.Ю. Ярёмченко <http://orcid.org/0000-0003-1196-5070>

Литература

1. Denaro N., Numico G., Pazzia T., Vitello R., Merlano M.C., The Role of Neck Dissection after Radical Chemoradiation for Locally Advanced Head and Neck Cancer: Should We Move Back? *Oncology* 2013; 84: 174–85.
2. Teymoortash A., Werner J.A. Current advances in diagnosis and surgical treatment of lymph node metastasis in head and neck cancer. *GMS Curr Top Otorhinolaryngol Head Neck Surg* 2012; 11: 1–23.
3. Chuan Bin Guo, Z.F., Jian Guo Zhang, Xin Peng, Zhi Gang Cai, Chi Mao et al., Supraomohyoid neck dissection and modified radical neck dissection for clinically node-negative oral squamous cell carcinoma: a prospective study of prognosis, complications and quality of life. *J Craniomaxillofac Surg* 2014; 42 (8): 1885–90.
4. Ashok R. Shaha, Editorial: Complications of Neck Dissection for Thyroid Cancer. *Ann Surg Oncol* 2008; 15 (2): 397–9.
5. Pellini R., C.M., Terenzi V., Sperduti I., Mancio V., Ruscito P., et al., Predictive factors for postoperative wound complications after neck dissection. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2013; 33 (1): 16–22.
6. Coskun H.H., M.J., Robbins K.T., Silver C.E., Stojan P., Teymoortash A., et al. Current philosophy in the surgical management of neck metastases for head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2015, 37 (6): 915–26.
7. Robbins T.K., Ashok R. Shaha, Jesus E. Medina, Joseph A. Califano, Wolf G.T., Ferlito A., et al. Consensus Statement on the Classification and Terminology of Neck Dissection. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2008; 134 (5): 536–8.
8. Hirshoren N., Ashqar F., Weinberger J.M., Eliashar R. Neck dissection: cause and effect. *J Laryngol Otol* 2015; 129 (4): 369–71.
9. Mazin Merdad, Antoine Eskander, Teresa Kroeker, Jeremy L. Freeman. Predictors of Level II and Vb Neck Disease in Metastatic Papillary Thyroid Cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2012; 138 (11): 1030–33.
10. van der Putten L., van den Broek G.B., de Bree R., van den Brekel M.W., Balm A.J., Hoebbers F.J., et al. Effectiveness of salvage selective and modified radical neck dissection for regional pathologic lymphadenopathy after chemoradiation. *Head Neck* 2009; 31 (5): 593–603.
11. Paleri V., Urbano T.G., Mehanna H., Repanos C., Lancaster J., Roques T., et al. Management of neck metastases in head and neck cancer: United Kingdom National Multidisciplinary Guidelines. *J Laryngol Otol* 2016; 130: 161–9.
12. Raja R. Seethala. Current State of Neck Dissection in the United States. *Head Neck Pathol* 2009; 3 (3): 238–45.

Нутритивный статус и эффективность различных типов нутритивной поддержки у пациентов с неходжкинскими лимфомами в активной фазе лечения

А.Ю. Вашура, М.С. Шамсутдинова, Д.В. Литвинов

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

Контактная информация:

Вашура Андрей Юрьевич, канд. мед. наук, заведующий отделом научных основ питания и нутритивно-метаболической терапии Лечебно-реабилитационного научного центра «Русское поле» НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.
Адрес: 142321, Московская обл., Чеховский район, СП Стремилновское, д. Гришенки
E-mail: avashura@gmail.com

Развитие опухолевого процесса, а также химиотерапия и ее последствия могут стать причинами нутритивных нарушений, которые усугубляют течение заболевания и осложняют восстановление пациента. При этом очень важно правильно выбрать тип нутритивной поддержки (парентеральное или энтеральное питание). Цель исследования – определить изменения нутритивного статуса у детей с неходжкинскими лимфомами (НХЛ), влияние его на длительность аплазии и развитие тяжелых осложнений в процессе активного лечения и оценить влияние разных типов нутритивной поддержки на эти показатели. Проведено ретроспективное исследование со сравнительным анализом, в которое включили 54 пациента, в том числе 40 (74%) мальчиков, в возрасте 1–17 лет (медиана – 9 лет). Анализировали показатели антропометрии – индекс массы тела (ИМТ), кожно-жировую складку над трицепсом (КЖСТ), окружность мышц плеча (ОМП) – на пяти временных отрезках, соответствующих течению терапии: «0» – 1–3 дня до начала циторедуктивной фазы лечения; «1, 2, 3, 4» – последний день соответствующего блока терапии и 4 дня после его окончания. Представлена достоверная положительная динамика КЖСТ за период наблюдения ($p < 0,05$), более выраженная у пациентов с исходной нутритивной недостаточностью ($p < 0,05$). Последняя ассоциирована с большей частотой развития тяжелых осложнений ($p = 0,02$). Сравнительный анализ типов нутритивной поддержки показал, что наиболее эффективно сочетание энтерального и парентерального питания, хотя последнее ассоциировано с большей частотой нефро- и гепатотоксичности.

Ключевые слова: дети, онкогематология, неходжкинская лимфома, нутритивный статус, нутритивная поддержка, питание.

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-3-62-68

The nutritional status and efficiency of different types of nutritional support in patients with non-Hodgkin's lymphomas (NHL) in active phase of treatment

A.Yu. Vashura, M.S. Shamsutdinova, D.V. Litvinov

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

Correspondence:

Andrey Vashura, PhD, the head of department of scientific basis of nutrition and nutritional metabolic therapy, Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation.
Address: Russia 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
E-mail: avashura@gmail.com

The development of the tumor process and chemotherapy with its after-effects, can cause nutritional disorders that aggravate the course of the disease and complicate recovery of patient. It is very important to choose the right type of nutritional support (parenteral or enteral nutrition). The aim of the study was to determine changes in the nutritional status of children with non-Hodgkin's lymphomas (NHL), its effect on the duration of aplasia and development severe complications in the active treatment process and to assess the impact of different types of nutritional support on these parameters. The retrospective study with a comparative analysis was performed. It included 54 patients, including 40 (74%) boys, aged 1–17 years (median – 9 years). We analyzed anthropometric parameters – body mass index (BMI), triceps skinfold thickness (TSF), mid-upper arm muscle circumference (MUAMC) – on five periods of time respective to the course of therapy: "0" – 1–3 days before the beginning of cytoreductive phase of treatment; "1, 2, 3, 4" – the last day of the therapy and 4 days after it. The reliable positive dynamics of TSF during monitoring period was found ($p < 0.05$), it was more pronounced in patients with initial nutritional insufficiency ($p < 0.05$). It was associated with a greater incidence of severe complications ($p = 0.02$). Comparative analysis of types of nutritional support showed that the most effective is combination of enteral and parenteral nutrition, although the latest is associated with a greater frequency of nephro- and hepatotoxicity.

Key words: children, oncology, hematology, non-Hodgkin's lymphoma, nutritional status, nutritional support, nutrition..

Химиотерапия онкологических заболеваний и связанные с ней последствия могут быть причиной нутритивных проблем за счет нарушения адекватного приема пищи (снижение аппетита, нару-

шение вкуса, анорексия, чувство быстрого насыщения, отвращение к еде), поражения пищеварительной системы (мукозиты, гастриты, энтероколиты, панкреатиты, токсический гепатит и др.), болевого син-

дрома и тошноты, сопровождающих приемы пищи, и инфекционных осложнений [1–4].

Кроме того, причиной развития нутритивных нарушений в виде белково-энергетической недостаточности являются изменения метаболизма, вызванные наличием злокачественной опухоли, и прежде всего провоспалительным статусом. Генерируемые опухолевыми клетками факторы липолиза и деградации протеинов приводят к быстрой потере массы тела, главным образом за счет распада мышечных белков [5–7]. Нутритивный статус, в свою очередь, может влиять на течение госпитального периода [1, 3]. Нутритивные нарушения усугубляют негативные последствия терапии и осложняют восстановление пациента [3].

При выборе типа нутритивной поддержки (энтеральное, парентеральное или смешанное питание) у таких больных многие склоняются к полному парентеральному питанию (ПЭП), забывая, что при отсутствии энтерального питания (ЭП) происходит не только атрофия слизистой кишечника, но и атрофия так называемой ассоциированной с кишечником лимфоидной ткани (*gut-associated lymphoid tissue* – GALT), что ведет к негативным последствиям – усугублению течения энтероколита, мукозита и др. К тому же прибавка массы тела у больного в данной ситуации еще не означает положительную динамику, так как это может происходить преимущественно за счет роста жировой ткани, что показано в предыдущих наших исследованиях [8]. Необходимо помнить, что при применении парентерального питания частота осложнений (технических, инфекционных, септических, метаболических) очень высока [9–11].

У энтерального питания есть преимущества: оно более физиологично, легче переносится, не требует соблюдения условий строгой стерильности, позволяет в большей степени обеспечить организм необходимыми субстратами, предотвращает развитие атрофических процессов в желудочно-кишечном тракте [9, 10, 12]. Между тем в клинической практике вопрос выбора типа нутритивной поддержки в различных ситуациях остается открытым [10, 13].

В НИИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России (далее – Центр) проводится регулярный скрининг нутритивного статуса детей, получающих лечение, методом антропометрии.

Цель исследования: определить изменения нутритивного статуса у детей с неходжкинскими лимфомами (НХЛ), влияние его на суммарную длительность аплазии и развитие тяжелых осложнений в процессе активного лечения, оценить эффект от применения в этих условиях разных типов нутритивной поддержки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено ретроспективное исследование со сравнительным анализом, в которое включили пациентов с диагнозом «неходжкинская лимфома» (С82–С83.7 по классификации МКБ-10), поступивших на лечение в период с марта 2014 по октябрь 2016 года, которым было проведено как минимум три первых блока химиотерапии и которые имели полные параметры антропометрического обследования в эти сроки.

Среди отобранных 54 пациентов было 40 (74%) мальчиков; медиана возраста пациентов составила 9 лет (от 1 до 17 лет). У 31 ребенка была диагностирована лимфома Беркитта, у 13 детей – диффузная В-крупноклеточная лимфома, у 10 человек – Беркитт-лейкоз (табл. 1).

Таблица 1
Распределение пациентов по нозологиям и стадиям заболевания

Диагноз	Стадия		
	2-я	3-я	4-я
Лимфома Беркитта	10	13	8
Беркитт-лейкоз	0	0	10
Диффузная В-крупноклеточная лимфома	5	7	1

Все пациенты проходили лечение по протоколу В-NHL-MB-2010 М. Распределение детей по группам риска: 2-я группа риска – 20 человек; 3-я группа – 33; 4-я группа – 1 ребенок.

Для анализа были определены пять временных интервалов, соответствующих блокам химиотерапии (ХТ) и периодам нутритивного мониторинга: «0» – 1–3 дня до начала циторедуктивной фазы лечения; «1», «2», «3», «4» – последний день соответствующего блока ХТ и 4 дня после его окончания. В ходе циторедукции все обследованные пациенты получили дексаметазон в суммарной дозе 40 мг/м². Далее, в ходе ХТ, каждый ребенок получил дексаметазон в суммарной дозе 50 мг/м² на каждый блок. Суммарные дозы цитостатических препаратов, которые получили пациенты за четыре блока ХТ, представлены в таблице 2.

Циторедуктивную фазу и 1-й блок ХТ в нашем Центре получили 50 из 54 обследованных детей – им было проведено первичное нутритивное обследование до начала лечения. Остальным 4 пациентам 1-й блок ХТ проведен вне Центра, но их показатели были учтены при проведении анализа.

Нутритивный мониторинг включал антропометрические показатели: рост, масса тела (МТ), индекс массы тела (ИМТ), кожно-жировая складка над трицепсом (КЖСТ), окружность плеча (ОП), окружность мышц плеча (ОМП).

МТ измеряли на медицинских весах с точностью до 100 г; рост (длину) тела определяли ростоме-

Таблица 2

Суммарные дозы цитостатических препаратов, полученные пациентами за 4 блока химиотерапии

Препарат	Суммарная доза	Количество детей
Винкристин	6 мг/м ²	54
Доксорубицин	50 мг/м ²	32
	100 мг/м ²	22
Ифосфамид	8 000 мг/м ²	24
	12 000 мг/м ²	30
Метотрексат	от 4 000 до 10 000 мг/м ²	12
	свыше 10 000 мг/м ²	42
Циклофосфан	1 000 мг/м ²	32
	2 000 мг/м ²	22
Цитарабин	600 мг/м ²	24
	свыше 12 000 мг/м ²	30
Этопозид	400 мг/м ²	24
	800 мг/м ²	30

ром или гибкой лентой (если пациент не мог встать) с точностью до 0,5 см. ИМТ вычисляли по формуле: $ИМТ = МТ, \text{ кг/рост}^2, \text{ м}^2$). КЖСТ измеряли с помощью калипера AF-FT 03 с электронным индикатором (AccuFitness); ОП измеряли на уровне середины плеча гибкой сантиметровой лентой с устройством, позволяющим оказывать при измерении одинаковое давление на мягкие ткани (AccuFitness Tape). ОМП вычисляли по формуле:

$ОМП, \text{ мм} = ОП, \text{ мм} - 3,14 \text{ КЖСТ}, \text{ мм}.$

В процессе исследования были сформированы три основные задачи, которые разделили основное исследование на три части.

Первая часть: оценка динамики нутритивного статуса на пяти выбранных временных периодах (временных точках) лечения. Проведен анализ данных 47 из 54 пациентов (4 пациента начали лечение вне Центра, трое не получили 4-й блок ХТ).

Вторая часть: оценка влияния исходных нутритивных показателей на клинические параметры в течение и по окончании первых четырех блоков ХТ. Включены данные 50 пациентов, которым проведен нутритивный скрининг на этапе «0». Для оценки связи с показателями нутритивного статуса мы ориентировались на такие клинико-лабораторные критерии, как суммарная длительность аплазии и тяжелые осложнения. Суммарную длительность аплазии подсчитывали следующим образом: фиксировали даты начала аплазии кроветворения и ее окончания, затем суммировали длительность аплазии в течение всех четырех блоков ХТ. Критерий «тяжелые осложнения» считали положительным, если у ребенка в период с 1-й по 4-ю точку исследования включительно (то есть на этапе первых четырех блоков ХТ) регистрировали осложнения 2-й степени и выше по шкале СТАЕ 4.0 в течение минимум 3 дней подряд или суммарно 5 и более дней.

Проанализировано изменение нутритивных па-

раметров (ИМТ, КЖСТ и ОМП) у групп пациентов в зависимости от исходного значения нутритивного статуса. Для этого была вычислена Δ (разница) для каждого показателя у каждого пациента по формуле: $\Delta = П_4 - П_0$, где $П$ – соответствующий антропометрический показатель; 4 и 0 – точки обследования, на которых он получен.

Третья часть: оценка эффективности разных типов нутритивной поддержки. Проводили оценку влияния парентерального питания на нутритивный статус, а также сравнительный анализ клинических показателей обследованных детей, получающих разные типы нутритивной поддержки (полное парентеральное питание, энтеральное питание и их сочетание). Для каждой сформированной подгруппы детей анализировали: частоту нефротоксичности (стойкое повышение уровня креатинина и мочевины в крови), частоту гепатотоксичности (стойкое увеличение печеночных трансаминаз), Δ КЖСТ и ОМП.

Статистический анализ данных проводили с использованием непараметрических методов: критерия Вилкоксона – при анализе динамики переменных, U-критерия Манна-Уитни – при сравнении двух подгрупп по нескольким критериям, точного критерия Фишера – при анализе частот признаков.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Мы оценили нутритивные показатели у пациентов с НХЛ в динамике на всех пяти точках исследования. На *рисунке 1* представлен ИМТ пациентов в соответствующей временной точке. Медиана ИМТ имеет отрицательный тренд с 0 по 2-ю точку, далее имеет положительный вектор, хотя достоверность разницы не подтверждена статистически ($p > 0,05$; критерий Вилкоксона).

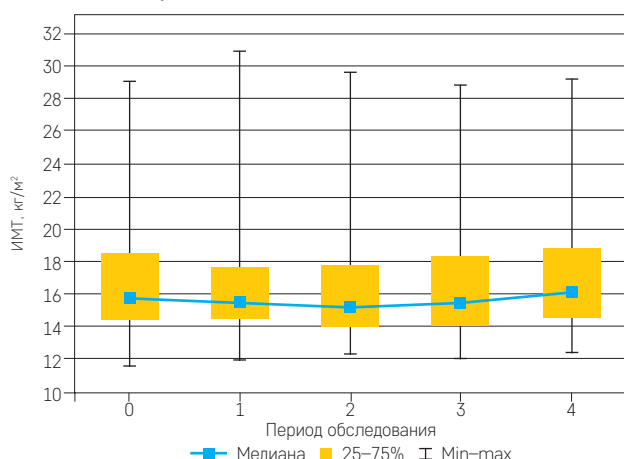
Динамика показателей ОМП в пяти точках представлена на *рисунке 2*. Имеется тенденция к увеличению ОМП, однако эта разница также не достоверна ($p > 0,05$). Достоверной динамики ОМП за указанный период не отмечено.

Значения КЖСТ на временных периодах исследования демонстрируют отчетливый положительный тренд (*рис. 3*). Поскольку КЖСТ косвенно отражает жировую массу тела, можно констатировать увеличение жировой массы у обследованных пациентов за период исследования. У обследованных детей имела явная тенденция к прибавке КЖСТ к 4-му блоку ХТ; распределение этого показателя относительно исходных значений статистически достоверно отличается ($p < 0,05$; критерий Вилкоксона).

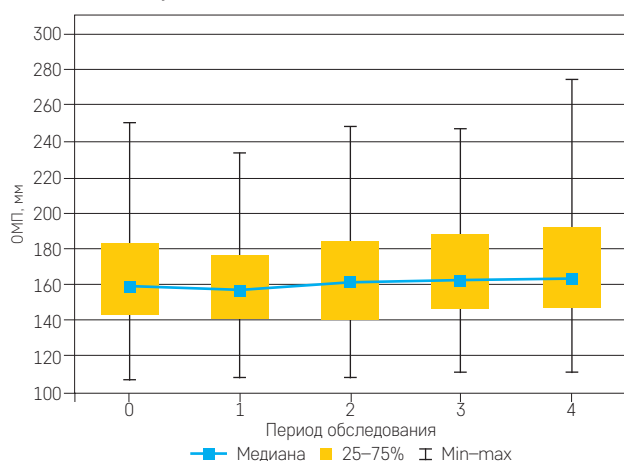
Полученные результаты выявили факт роста значения ИМТ начиная со 2-й точки исследования, преимущественно за счет увеличения жировой мас-

Рисунок 1

Динамика ИМТ у обследованных пациентов

**Рисунок 2**

Динамика ОМП у обследованных пациентов

**Рисунок 3**

Динамика КЖСТ у обследованных пациентов

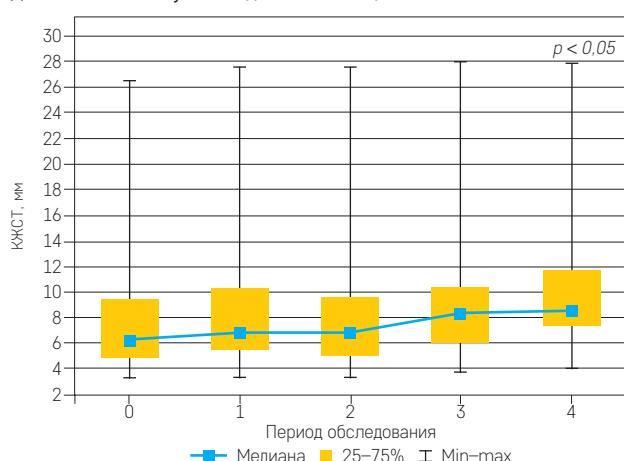


Таблица 3

Частота развития тяжелых осложнений у пациентов с различными исходными нутритивными показателями

Исходный нутритивный статус	Тяжелые осложнения		Всего
	есть	нет	
Недостаточность	11*	6	17
Норма	5	19*	24
Избыток	3	6	9

* $p = 0,02$ (точный критерий Фишера).

сы тела. Величина соматического пула белка (оценивается по значению ОМП) при этом остается достоверно неизменной.

Для оценки связи исходных параметров нутритивного статуса с последствиями выбранного лечения и динамикой этих показателей мы разделили всех пациентов с НХЛ на три группы в соответствии с исходным нутритивным статусом (точка «0»):

- нутритивная недостаточность ($n = 17$): ИМТ < 15 перцентиля и/или ОМП < 10 перцентиля;
- нормальный нутритивный статус ($n = 24$): ИМТ – от 15 до 84 перцентиля включительно; ОМП > 10 перцентиля;
- избыток МТ и ожирение ($n = 9$): (ИМТ > 84 перцентиля).

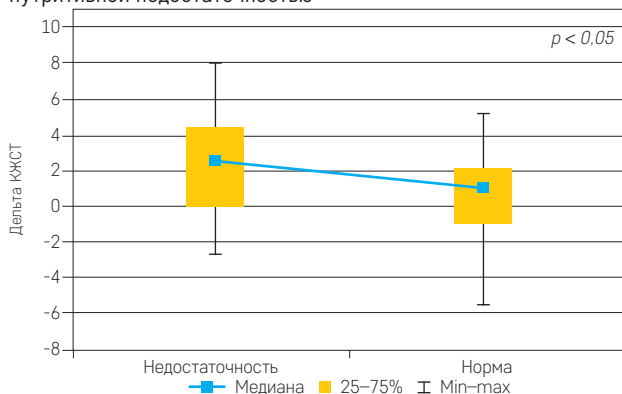
Группа детей с избыточной массой тела была немногочисленной ($n = 9$), поэтому в последующий статистический анализ данные детей этой группы не включили. Анализировали данные группы пациентов с нормальным нутритивным статусом и нутритивной недостаточностью. Анализ показал, что суммарная длительность аплазии у детей данных групп достоверно не отличалась ($p = 0,76$; U-критерий Манна-Уитни), но частота развития тяжелых осложнений оказалась у них статистически различной (табл. 3). Пациенты с исходно нормальным нутритивным статусом имели достоверно более низкую частоту развития тяжелых осложнений (5 из 24 пациентов) по сравнению с детьми с исходной нутритивной недостаточностью (11 из 17; $p = 0,02$; точный критерий Фишера). Полученные результаты свидетельствуют о прогностической значимости нутритивного статуса относительно развития тяжелых осложнений у пациентов с НХЛ.

Изменения ИМТ у пациентов с исходно нормальным нутритивным статусом и нутритивной недостаточностью за период исследования достоверно не отличались. Величина ОМП также не имела какой-либо существенной динамики ни в одной из групп. В группе с исходной нутритивной недостаточностью величина ОМП фактически не претерпела существенных положительных изменений. А вот величина жировой массы у детей разных групп изменялась по-разному. Как видно на рисунке 4, Δ КЖСТ у детей с исходной нутритивной недостаточностью была очевидно и статистически достоверно выше ($p = 0,03$; U-критерий Манна-Уитни), то есть пациенты с нутритивной недостаточностью достоверно быстрее прибавили жировую массу за время лечения, чем дети с нормальным нутритивным статусом. Несмотря на это, динамика соматического пула белка у них не отличалась.

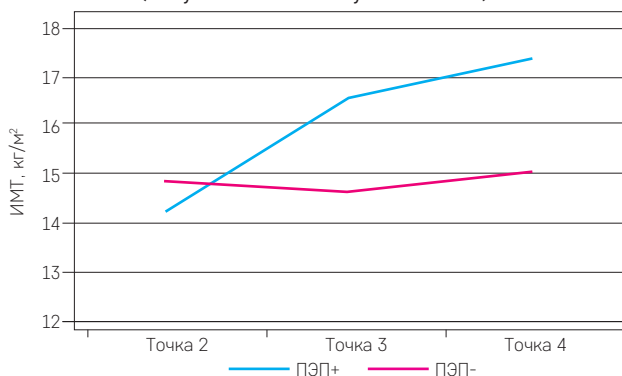
Мы провели сравнительный анализ ретроспективных данных у пациентов с НХЛ, получавших различные типы нутритивной поддержки. Парентеральное питание на разных этапах исследования

Рисунок 4

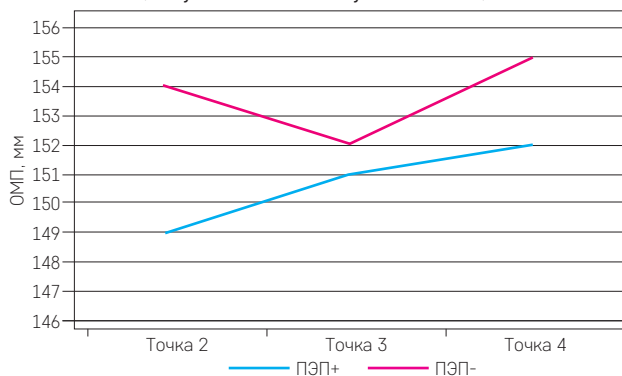
Изменение величины КЖСТ за период исследования у пациентов с исходно нормальным нутритивным статусом и нутритивной недостаточностью

**Рисунок 5**

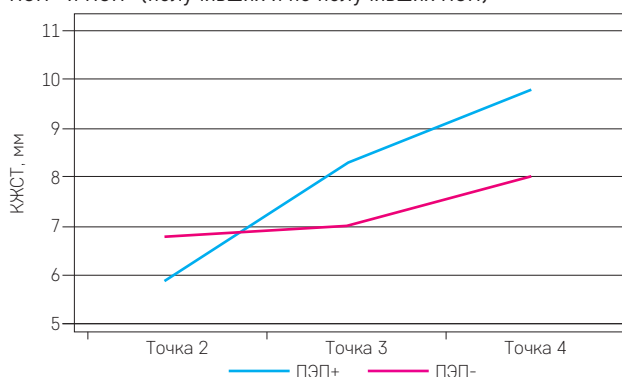
Динамика показателей ИМТ у пациентов двух подгрупп: ПЭП+ и ПЭП- (получивших и не получивших ПЭП)

**Рисунок 6**

Динамика показателей ОМП у пациентов двух подгрупп: ПЭП+ и ПЭП- (получивших и не получивших ПЭП)

**Рисунок 7**

Динамика показателей КЖСТ у пациентов двух подгрупп: ПЭП+ и ПЭП- (получивших и не получивших ПЭП)



получало неоднородное количество пациентов: на этапе «0» – 3 пациента; на этапе «1» – 8; на этапе «2» – 12; на этапе «3» – 10; на этапе «4» – 7 пациентов. В основном ПЭП назначали пациентам в связи с полным отсутствием аппетита и невозможностью перорального питания. У большинства (83%) из них имелась нутритивная недостаточность (у 61% – тяжелая, у 59% – умеренная).

Нашей задачей был анализ эффекта ПЭП на нутритивные показатели у пациентов с нутритивной недостаточностью. Основная масса пациентов получала ПЭП после 2-го и 3-го блоков, поэтому мы решили оценить динамику показателей нутритивного статуса со 2-го по 4-й блок ХТ (между «2» и «4» точками исследования).

На момент завершения 2-го блока ХТ (точка «2») нутритивная недостаточность была отмечена у 23 пациентов, среди них 10 человек получали полное ПЭП (в том числе 4 человека – регулярное энтеральное питание лечебными смесями, но в объеме не более 1/5 потребности основного обмена). Остальные 13 пациентов получали энтеральное питание: 7 человек – специальными смесями (в том числе двое – частичное ПЭП) и 6 человек – обычный рацион. На рисунках 5–7 представлена динамика нутритивных показателей у пациентов обеих подгрупп, получавших ПЭП («ПЭП+») и не получавших («ПЭП-») за указанный период. У пациентов подгруппы «ПЭП+» ИМТ увеличивался со 2-го по 4-й блок ХТ, причем значительно быстрее и на большую величину, чем в подгруппе «ПЭП-». Это обусловлено прежде всего прибавкой жировой массы (на графике отмечена выраженная положительная динамика КЖСТ у пациентов этой подгруппы). Пациенты, не получившие ПЭП, имели некоторый отрицательный тренд величины соматического пула белка и мягкий прирост КЖСТ, что повлияло на отсутствие положительной динамики ИМТ в указанный интервал времени.

Для анализа эффективности отдельных видов нутритивной поддержки мы выделили из общей группы тех пациентов, которые получали нутритивную поддержку в течение как минимум трех этапов наблюдения – таких пациентов было 30: из них с нутритивной недостаточностью – 21, с нормальным нутритивным статусом – 9 человек. Эту группу ($n = 30$) мы разделили на три подгруппы в зависимости от типа нутритивной поддержки. Пациенты подгруппы «ПЭП» ($n = 7$) получали только ПЭП или ПЭП с минимальным ЭП. В подгруппе «ПЭП + ЭП» ($n = 14$) пациенты получали смешанную нутритивную поддержку (периодически либо совместно ПЭП и ЭП). Только ЭП с блюдами обычного рациона или без них получали пациенты подгруппы «ЭП» ($n = 9$). В таблице 4 приведена характеристика пациентов этих подгрупп по нескольким критериям: развитие нефротоксичности со

Таблица 4

Частота токсичности и динамика антропометрических показателей у пациентов с разными типами нутритивной поддержки

Тип питания	Всего	Нефротоксичность	Гепатотоксичность	Δ КЖСТ	Δ ОМП
ПЭП	7	6	4	+3,7	-6
ПЭП + ЭП	14	4	9	+2,1	+9
ЭП	9	0	3	+0,3	-2

стойким повышением мочевины, гепатотоксичности со стойким увеличением печеночных трансаминаз, Δ КЖСТ и ОМП.

Из-за малой численности пациентов в этих подгруппах нет возможности провести достоверный статистический анализ, но данные таблицы показывают, что почти у всех пациентов подгруппы «ПЭП» был отмечен высокий уровень мочевины, а у большинства из них (у 4 из 7) – гепатотоксичность. При этом у них имелись большая прибавка КЖСТ по сравнению с другими пациентами и выраженная отрицательная динамика ОМП. У пациентов подгруппы «ЭП» была самая низкая вероятность развития нефро- и гепатотоксичности, но нутритивные показатели у них не имели положительного тренда. Самым эффективным для обследованных пациентов оказалось сочетание ПЭП и ЭП, только оно дало выраженный положительный тренд в прибавке ОМП, то есть соматического пула белка при умеренной прибавке жировой массы, что принципиально важно. При этом у большинства пациентов данной подгруппы отмечали побочные эффекты в виде нефро- и гепатотоксичности.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В нашем исследовании показано, что ИМТ (фактически – вес) в динамике за время лечения у большинства пациентов имеет сначала отрицательный, а затем положительный тренд. Существенной прибавки, равно как и отрицательной динамики, этот показатель у исследуемой выборки не показывает. Что примечательно, ОМП, отражающая соматический пул белка, не претерпевает положительных изменений – даже у тех детей, которые имели при поступлении нутритивную недостаточность. На этом фоне отчетливо прослеживается достоверная положительная динамика жировой массы тела, причем она существеннее у детей с исходным нутритивным дефицитом. Причиной этому может быть введение глюкокортикоидов. Интересно, что в работах многих авторов, посвященных нутритивным нарушениям в онкологии, акцент сделан именно на ИМТ [2, 3, 5, 6], поскольку этот классический показатель остается определяющим [2, 5, 14]. Увеличение ИМТ у детей с нутритивной недостаточностью часто рассматривается на практике как сугубо положительная динамика. С другой

стороны, эксперты ASPEN в относительно недавнем крупном обзоре еще раз убедительно доказали необходимость полноценной антропометрии с включением таких показателей, как толщина КЖСТ и ОМП [14]. В нашем исследовании показано также, что увеличение ИМТ у пациентов далеко не всегда можно считать положительной динамикой, поскольку оно не соответствует реальной динамике соматического пула белка. Это отмечено и в более ранних наших исследованиях, посвященных анализу нутритивного статуса детей после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) [15].

В данном исследовании мы подтвердили известный факт: исходная нутритивная недостаточность существенно отягощает течение госпитального периода и прогнозы, поскольку частота развития тяжелых осложнений у детей с нутритивной недостаточностью достоверно выше, чем у пациентов с исходным нормальным нутритивным статусом. Полученные результаты позволяют сделать однозначный вывод о целесообразности детального нутритивного скрининга с целью максимально возможной коррекции имеющихся нутритивных нарушений еще до начала противоопухолевого лечения.

Эксперты расходятся во мнениях относительно важности и целесообразности проведения различных типов нутритивной поддержки у детей с онкологическими заболеваниями во время ХТ [1, 2, 11, 13]. Тем не менее мы можем предположить, что максимальную эффективность относительно прибавки соматического пула белка (ОМП) имеет смешанная нутритивная поддержка (сочетание ЭП и ПЭП), поскольку у пациентов, находящихся на ХТ, часто отмечают гастроинтестинальные нарушения разной степени тяжести, которые могут снижать эффективность энтеральной алиментации, при этом в некоторых случаях ПЭП просто незаменимо. Нельзя однозначно выделить какой-то один тип нутритивной поддержки, «забывая» о другом. Преимущества ЭП очевидны, но оно не всегда возможно в полном объеме и должно дополняться парентеральным питанием. ПЭП несет больше побочных эффектов, в частности, в нашем случае оно ассоциировано с увеличением частоты нефро- и гепатотоксичности у пациентов. В некоторых руководствах также имеются указания на возможность таких осложнений, что подразумевает максимально быстрый переход на ЭП. По нашему мнению, в данном вопросе следует учитывать соотношение «риск/эффективность», поскольку, как показано выше, максимально эффективно именно сочетание двух типов нутритивной поддержки у таких пациентов [1, 4].

Главным недостатком данного исследования авторы считают относительно малую величину выборки и сформированных групп, что не позволило провести

более детальный факторный анализ. Но выводы данной работы имеют практическую ценность, их можно считать отправной точкой для более детального исследования, но нельзя достоверно экстраполировать на всех пациентов с НХЛ, а тем более на всех пациентов с онкологическими заболеваниями. Тем не менее в этом исследовании затронут очень важный вопрос: воздействие и эффективность различных типов нутритивной поддержки в онкологии. На эту тему имеется очень мало работ. Будущее проспективное продольное исследование или исследование «случай–контроль» на выборке пациентов с разными онкологическими заболеваниями позволит с большей достоверностью и статистической мощностью сделать выводы о применении ЭП и ПЭП у данных пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам нашего ретроспективного исследования, проведенного на относительно малочисленной выборке пациентов ($n = 54$), объединенных одной нозологией – неходжкинская лимфома, можно сделать несколько выводов. У пациентов с исходной нутритивной недостаточностью за 4 блока ХТ отмечена достоверная прибавка жировой массы

тела при отсутствии положительной динамики ОМП. Но увеличение массы тела у пациентов в процессе лечения далеко не всегда можно считать положительной динамикой нутритивного статуса, если оно не соответствует реальной динамике соматического пула белка. Исходные нутритивные нарушения ассоциированы с развитием тяжелых осложнений во время первых 4 блоков ХТ. У пациентов с нормальным нутритивным статусом частота развития таких осложнений достоверно ниже. Максимальную эффективность в плане нутритивной коррекции имеет смешанная нутритивная поддержка – сочетание ПЭП и ЭП. У данной выборки пациентов ПЭП было ассоциировано с большей частотой развития нефро- и гепатотоксичности. Нутритивный скрининг и коррекция имеющихся нутритивных нарушений целесообразны еще до начала химиотерапии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

А.Ю. Васьур <http://orcid.org/orcid.org/0000-0002-4296-3345>

Д.В. Литвинов <http://orcid.org/orcid.org/0000-0002-7461-0050>

Литература

1. Снеговой А.В., Салтанов А.И., Манзюк Л.В. и др. Нутритивная недостаточность у онкологических больных: принципы коррекции. РМЖ. Онкология, 2013, №1: 14–21.
2. Bauer J., Jürgens H., Frühwald M.C. Important Aspects of Nutrition in Children with Cancer Adv Nutr 2011; 2: 67–77.
3. Fearon K.C., Voss A.C., Hustead D.S. Definition of cancer cachexia: effect of weight loss, reduced food intake, and systemic inflammation on functional status and prognosis Am J Clin Nutr 2006; 83: 1345–50.
4. Arends J., Bodoky G., Bozzetti F., Fearon K., Muscaritoli M., Selga G., van Bokhorst M.A.E., von Meyenfeldt M. ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Non-surgical oncology. Clinical Nutrition 2006; 25: 245–59.
5. Viana M.B., Murao M., Ramos G., et al. Malnutrition as a prognostic factor in lymphoblastic leukaemia: a multivariate analysis. Arch Dis Child 1994; 71: 304–10.
6. Lobato-Mendizabal E., Ruiz-Arguelles G.J., Marin-Lopez A. Leukemia and nutrition. I: Malnutrition is an adverse prognostic factor in the outcome of treatment of patients with standard-risk acute lymphoblastic leukaemia. Leuk Res 1989; 13: 899–906.
7. Rickard K.A., Detamore C.M., Coates T.D., et al. Effect of nutrition staging on treatment delays and outcome in stage four neuroblastoma. Cancer 1983; 52: 587–98.
8. Васильева Е.С., Васьур А.Ю., Литвинов Д.В. Нутритивный статус у детей с онкологическими и гематологическими заболеваниями, находящихся на лечении в ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» (результаты скринингового исследования). «Современная онкология», 2016, т. 18 (4): 48–52.
9. Руководство по парентеральному и энтеральному питанию (Под ред. И.Е. Хорoshiлова). – СПб.: Нормед-Издат, 2001, 376.
10. Goere D., Cunha A. Sa. Parenteral and enteral nutritional support. Villejuif, France: Journal of Visceral Surgery 2015; 8–13.
11. Bozzetti F. Нутриционная поддержка в онкологии. В кн.: Основы клинического питания. Материалы лекций для курсов Европейской ассоциации парентерального питания. – Петрозаводск: ИнтелТек, 2004.
12. Костюченко А.П., Железный О.К., Шведов А.Г. Энтеральное искусственное питание в клинической медицине. – Петрозаводск: ИнтелТек, 2001.
13. Снеговой А.В., Сельчук В.Ю., Манзюк Л.В., Салтанов А.И., Снигур П.В. К вопросу об энтеральном питании в онкологии. РМЖ, 2007; 25: 19–24.
14. Mehta N.M., Corkins M.R., Lyman B., Malone A., Goday P.S., Carney L., Monczka J., Plogsted S.W., Schwenk W.F. Defining pediatric malnutrition: a paradigm shift toward etiology-related definitions. JPEN 2013; 1–22.
15. Васьур А.Ю., Коновалова М.В., Скоробогатова Е.В., Бельмер С.В., Цейтлин Г.Я. Нутритивный статус и тканевый состав тела у детей после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Онкогематология, 2011, №4, 33–38.

Острый миелоидный лейкоз у детей с транслокацией t(8;16)(p11;p13)

В.Е. Матвеев, И.И. Калинина, У.Н. Петрова, М.Э. Дубровина,
А.С. Старовойтова, А.А. Масчан

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

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) – это клональное системное заболевание кроветворной системы, которое включает в себя крайне гетерогенную группу патологий. Оптимизация методов лечения данной патологии – важная задача. Более 1% ОМЛ с редкими транслокациями не подлежат строгой стратификации на группы риска. Данные различных исследователей относительно одних и тех же цитогенетических аномалий разнятся. В статье представлен опыт диагностики и терапии пациента НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева с редким подтипом ОМЛ с транслокацией t(8;16)(p11;p13). Пациенту были проведены курсы высокодозной химиотерапии и в дальнейшем аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. По результатам катмнеза (1,5 года), ребенок находится в клинко-гематологической и цитогенетической ремиссии.

Ключевые слова: дети, острый миелоидный лейкоз, транслокация (8;16).

Childhood acute myeloid leukemia with the t(8;16)(p11;p13) translocation

V.E. Matveev, I.I. Kalinina, U.N. Petrova, M.E. Dubrovina, A.S. Starovoirova, A.A. Maschan

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

Acute myeloid leukemia is a clonal systemic disease of the hematologic system, which includes heterogeneous group of diseases. Therefore optimization of methods of treatment of this pathology is an important task. More than 1% of AML with rare translocations can not be strictly divided into risk groups. There are also discrepancies between different researchers' data on the same cytogenetic abnormalities. In this article we present the experience of diagnostics and therapy of the patient with the rare sub-type of AML with the t(8;16)(p11;p13) translocation in Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology. The patient received high-dose chemotherapy and allogeneic hematopoietic stem cell transplant. According to catamnesis the child (1.5 years) has been in the clinico-hematological and cytogenetic remission.

Key words: children, acute myeloid leukemia, t(8;16)(p11;p13) translocation.

Контактная информация:

Матвеев Виктор Евгеньевич,
врач-гематолог отделения детской
гематологии/онкологии НМИЦ
детской гематологии, онкологии
и иммунологии им. Дмитрия Рогачева
Минздрава России.
Адрес: 117997, Москва, ГСП-7,
ул. Саморы Машела, 1
Тел.: 8 (495) 287-6570, доб. 7433
E-mail: matveev-v.e@yandex.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-4-69-74

Correspondence:

Victor E. Matveev, MD, Department
of Hematology, Dmitriy Rogachev
National Medical Research Center
of Pediatric Hematology, Oncology,
Immunology Ministry of Healthcare of
Russian Federation.
Address: Russia 117997, Moscow,
Samory Mashela st., 1
Tel.: +7 (495) 287-6570, ext. 7433
E-mail: matveev-v.e@yandex.ru

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) у детей – это группа заболеваний, характеризующихся нарушением дифференцировки и нерегулируемой пролиферацией клеток миелоидной линии гемопоэза. На долю ОМЛ приходится 14–25% всех острых лейкозов у детей [1]; у пациентов первого полугодия жизни преобладают именно миелоидные лейкозы.

По данным мультицентровых исследований, использование современных методов диагностики и лечения позволило достичь 5-летней бессобытийной выживаемости у 50–63% детей с ОМЛ (табл. 1) [1]. При этом, несмотря на прогресс в понимании процессов становления и развития лейкоза, улучшение результатов за последние десять лет если и произошло, то только за счет более эффективного лечения рецидивов ОМЛ с использованием аллогенной

трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК).

Основа современной стратификации ОМЛ по группам риска – цитогенетические и молекулярные аномалии, выявляемые в лейкоэмическом клоне в момент первичной диагностики. Существует ряд генетических аномалий, которые хорошо изучены и имеют доказанное прогностическое значение. Больные ОМЛ с t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13;1q22) или t(16;16)(p13.1;q22), t(15;17)(q22;q12) в целом относятся к группе с благоприятным прогнозом при условии специфического лечения для каждой формы заболевания. В то же время даже эти, казалось бы, небольшие, четко детерминированные подгруппы в реальности не являются гомогенными, их прогноз может существенно ухудшаться при наличии допол-

Таблица 1

Результаты лечения ОМЛ у детей, по данным разных исследовательских групп [1]

Исследование, страна	Годы	Число пациентов	Доля пациентов, у которых достигнута полная ремиссия, %	Выживаемость
MRC AML 12, Великобритания	1995–2002	529	92	10-летняя EFS – 54% 10-летняя OS – 63%
St. Jude AML02, США	2002–2008	230	94	5-летняя EFS – 63% 5-летняя OS – 71%
AIEOP AML 2002/01, Италия	2002–2011	482	87	8-летняя EFS – 55% 8-летняя OS – 68%
COG AAML03P1, США	2003–2005	350	87	5-летняя EFS – 53% 5-летняя OS – 66%
NORNO AML 2004, Дания, Норвегия, Швеция, Исландия, Финляндия	2004–2009	151	92	3-летняя EFS – 57% 3-летняя OS – 69%
AML-BFM 2004, Германия	2004–2012	611	89	5-летняя EFS – 55% 5-летняя OS – 74%

нительных хромосомных и молекулярных аномалий, таких как мутации в генах *c-KIT*, *FLT3* и др. [2]. К прогностически неблагоприятной группе относятся лейкозы со сложными кариотипическими аберрациями, большинство поломок 3, 5, 7 хромосом, аномалии гена *MLL*, мутации гена *FLT3* (внутренняя tandemная дупликация юстамембранного домена) [1, 2]. Кроме того, при ОМЛ у детей встречаются и крайне редкие (не более чем в 1% случаев) генетические поломки, такие как *t(6;9)*, *t(8;16)*, *t(16;21)*, прогностическое значение которых не определено [3]. Пример такой редкой подгруппы цитогенетических аномалий – ОМЛ с транслокацией *t(8;16)(p11;p13)*, частота которого составляет 0,2–0,4% всех новых случаев ОМЛ. Как правило, в литературе встречаются описания единичных случаев или небольших групп педиатрических пациентов, поэтому составить представление об истинном их прогностическом значении практически невозможно – описаны случаи как спонтанных ремиссий и выздоровления, так и крайне неблагоприятного течения заболевания [4].

Транслокация *t(8;16)(p11;p13)* приводит к слиянию фрагментов гена *KAE6A* (прежнее название – *MOZ*), расположенного на хромосоме 8p11, и гена, кодирующего *CREBBP* (CREB-связывающий белок), локализуемого на хромосоме 16p13. Белки, кодируемые генами *KAE6A* и *CREB*, обладают ацетилтрансферазной активностью, кроме того, они участвуют в регуляции транскрипции и контроле клеточного цикла. Химерный транскрипт, полученный в результате слияния данных генов, безусловно, играет роль в процессе лейкемогенеза, так как нарушает ремоделирование хроматина [5]. Гены *KAE6A* и *CREBBP* задействованы также в других редких транслокациях при ОМЛ, таких как *t(10;16)(q22;p13)* (*KAE6A-CREBBP*), *t(8;22)(p11;q13)* (*KAE6A-EP300*) и *t(11;16)(q23;p13.3)* (*MLL-CREBBP*) [4].

Приводим описание собственного наблюдения пациента с транслокацией *t(8;16)(p11;p13)*.

Клиническое наблюдение

У ребенка Ф., рожденного от неосложненной беременности, от родителей, не состоящих в родстве, в возрасте одного месяца было отмечено появление безболезненного уплотнения кожи темно-синего цвета в левой околопупочной зоне размером 1×1,5 см (рис. 1). В динамике размер этого элемента

Рисунок 1

Экстремедуллярное поражение кожи при ОМЛ с *t(8;16)(p11;p13)*



увеличивался, появлялись также новые, более мелкие схожие очаги. В остальном развитие ребенка соответствовало возрасту.

По месту жительства была проведена биопсия и гистологическое исследование элемента: в тканях дермы и субэпидермально – выраженный атипичный рост опухоли мезенхимального происхождения с большим количеством митозов, инвазивной формой роста и обилием бластоподобных клеток. В течение периода обследования были отмечены эпизоды повышения температуры до фебрильных цифр, купированные приемом антипиретиков. Через 2 месяца ребенок был направлен на госпитализацию в отделение детской гематологии и онкологии НМИЦ детской

гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России для уточнения диагноза и лечения.

При поступлении в возрасте 4 месяцев у ребенка отметили наличие множественных элементов папулезного характера по всей поверхности тела размером от 0,1 до 1 см, плотных при пальпации, безболезненных, сине-фиолетового цвета; имелись также умеренные сплено- (+2 см) и гепатомегалия (+3 см) по среднеключичной линии от края реберной дуги.

По данным лабораторных исследований выявлена анемия: гемоглобин – 90 г/л; лейкоциты – $9,41 \times 10^9/\text{л}$ (лейкоцитарная формула: сегментоядерные нейтрофилы – 4%, эозинофилы – 5%, лимфоциты – 88%, моноциты – 3%); тромбоциты – $338 \times 10^9/\text{л}$; бластных клеток нет), ЛДГ – 893 ед/л.

Миелограмма (рис. 2, 3): бластные клетки – 72%; популяция лейкемических клеток с морфологическими чертами моноцитарной линии дифференцировки, в которой преобладают зрелые моноциты. Морфологическая особенность данной популяции

Рисунок 2

Популяция бластных клеток (окраска по Майн-Грюнвальду и Романовскому)

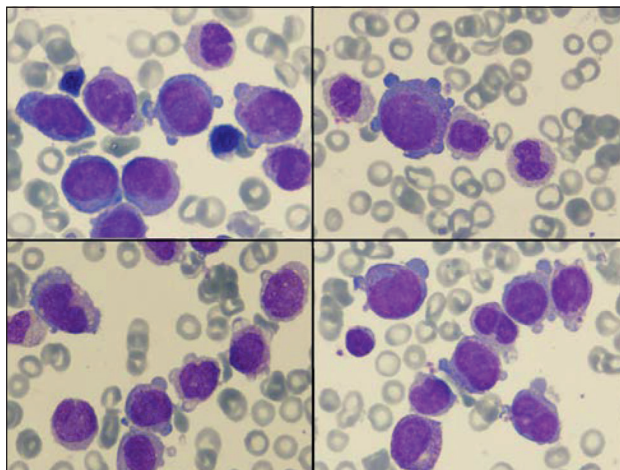
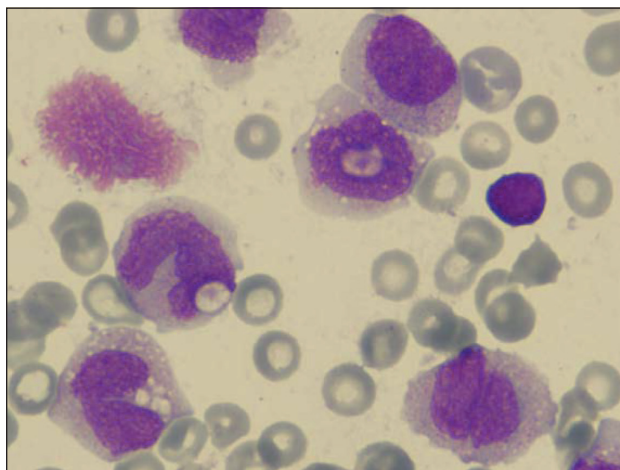


Рисунок 3

Фагоцитоз тромбоцита бластной клеткой (окраска по Майн-Грюнвальду и Романовскому)



закljučается в преобладании билобулярных форм ядер, класматоз цитоплазмы, в большинстве клеток визуализируется азурофильная зернистость, в части клеток – явления гемофагоцитоза (тромбоциты, эритроциты); мегакариоцитарный и нейтрофильный ростки сужены; содержание лимфоцитов повышено. Миелопероксидаза, судан (липиды): единичные, в созревающем компоненте – отрицательно. PAS (гликоген) – единичные, мелкогранулярного характера. Неспецифическая эстераза – от +++ до +++++, тотально подавляется NaF. Вариант по франко-американско-британской (FAB) классификации – M5b.

Иммунофенотипирование бластного региона костного мозга (доля региона 63%): CD2+ – 7%; CD4 – 100%; CD19+ – 7%; CD11a – 92%; CD11c – 89%; CD11b – 88%; CD13 – 97%; CD14 – 100%; CD15 – 98%; CD33 – 94%; CD36 – 100%; CD38 – 99%; CD45 – 100%; CD56 – 50%; CD64 – 99%; CD65 – 100%; HLA-DR – 67%; NG2 – 31%; MPO – 5%; TdT – 98%. Бластная популяция соответствует ОМЛ с коэкспрессией CD56.

Стандартное кариотипирование костного мозга: 46,XY,t(8;16)(p11;p13)(10)/46,XY [6].

Цитогенетическое исследование костного мозга методом FISH: перестроек генов *MLL*, *CBFB* (inv(16)); *ETV6* не обнаружено.

Цитологическое исследование ликвора: цитоз – 42 клетки в мкл; бластные клетки – 2%.

На основании проведенных обследований, клинической картины, анамнеза ребенку установлен диагноз: острый миелоидный лейкоз врожденный, M5b, t(8;16)(p11;p13), ЦНС IV, множественные экстрамедуллярные очаги поражения на коже.

Терапия

Ребенку проведена интенсивная химиотерапия согласно протоколу ОМЛ-ММ-2006 [7]. Пациент отнесен к группе высокого риска согласно одному из пунктов стратификации – несоответствие критериям стандартного и промежуточного рисков, которая подразумевает проведение алло-ТГСК.

Клинико-гематологическая и цитогенетическая ремиссии были достигнуты после проведения индукции цитозин-арабинозидов даунорубицином и этопозидом. Ремиссия была консолидирована двумя курсами высоких доз цитозин-арабинозида с антрациклинами и этопозидом.

В дальнейшем пациенту была проведена гаплогенотипная трансплантация гемопоэтических клеток периферической крови от отца с применением TCRab/CD19 деплеции. В рамках кондиционирования перед ТГСК были использованы: треоосульфат – 42 г/м²; флударабин – 150 мг/м² и тиотепа – 10 мг/кг [8]. Профилактика реакции «трансплантат против хозяина»/отторжения трансплантата включала: тимоглобулин – 5 мг/кг (–4-е, –3-и сут.); ритуксимаб

Таблица 2

Сравнительные характеристики пациента Ф. и других детей с t(8;16)(p11; p13)

Показатель	Пациент Ф.	Данные литературы
Возраст на момент презентации	1 месяц	Медиана – 1,2 года
Экстремедуллярные очаги	Кожа	Часто кожа и др.
Эритрофагоцитоз	Есть	Часто
Инициальное поражение центральной нервной системы (ЦНС)	ЦНС-статус IV	Часто
Субвариант по FAB классификации	M5b-вариант	M4 и M5
Иммунофенотип	CD15, HLA-DR, CD56, CD14, CD13, CD33	CD15, HLA-DR, CD56, CD14, MPO, CD13, CD33
Химерный транскрипт KAE6A-CBP	Исследование не проводили	KAE6A экзон 16 – CBP экзон 8 KAE6A экзон 16 – CBP экзон 7

– 375 мг/м² (-1-е сут.); бортезомиб – 1,3 мг/м² (+2-е, +5-е сут.). Осложнения после ТГСК: развитие цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ) – персистирующая ЦМВ-виремия, ЦМВ-ретинит.

Ребенок находится в клинико-гематологической и цитогенетической ремиссии с нормальными анализами крови и полным донорским химеризмом на сроке наблюдения 1,5 года после проведения ТГСК.

Таким образом, мы наблюдали у нашего пациента типичную картину для данного подтипа ОМЛ – экстремедуллярные очаги (кожные покровы и ЦНС), эритрофагоцитоз, экспрессия маркеров CD56, M5b-вариант по FAB, врожденный характер заболевания (табл. 2). Отмечен полный ответ на проведенную терапию, однако необходим более длительный период наблюдения.

Обзор литературы

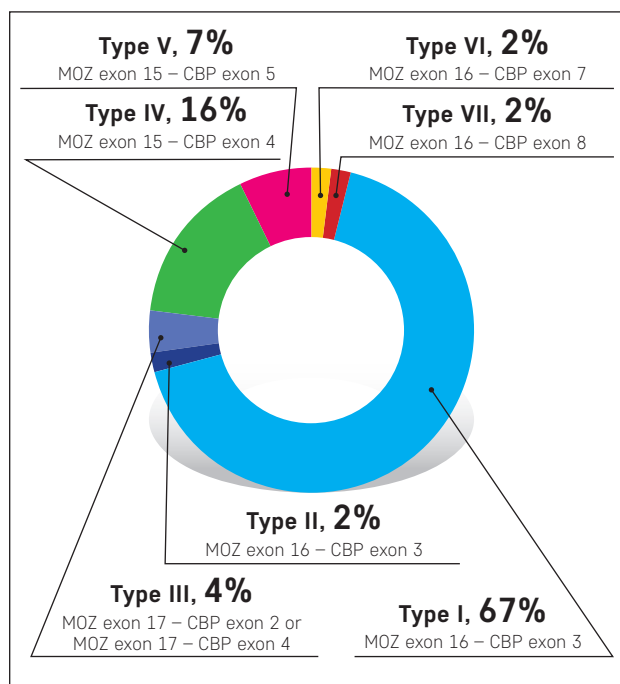
Е.А. Соенен и соавт. выполнили интернациональное ретроспективное исследование с целью изучения клинических особенностей и ответа на лечение ОМЛ у 62 пациентов детского возраста (0–18 лет) с транслокацией t(8;16)(p11;p13) [4]. Контрольная группа включала 543 пациента с ОМЛ. Средний возраст пациентов с представленной выше цитогенетической поломкой составил 1,2 года. Частота врожденных случаев в этой группе была значительно выше, чем в контрольной группе. Информация о экстремедуллярных очагах, развитии ДВС-синдрома, эритрофагоцитоза была предоставлена не у всех 62 пациентов. В 66% случаев выявлены экстремедуллярные очаги (поражение кожи и др.). Вовлечение ЦНС наблюдалось у 15% пациентов; в контрольной группе – у 12%. Кожные проявления были диагностированы у 58% пациентов и значительно чаще встречались у детей до 1 года (82%); в контрольной группе поражения кожи выявлены всего в 8% случаев. Опи-

саны и другие экстремедуллярные поражения, например, гранулоцитарная саркома. Интересно, что у 39% больных зафиксировано развитие ДВС-синдрома. Большинство (97%) пациентов имело морфологическую картину миеломоноцитарного (M4) или моноцитарного (M5) лейкоза согласно классификации FAB (в группе контроля – 41%). У 70% пациентов встречался эритрофагоцитоз (в контрольной группе информация о частоте эритрофагоцитоза отсутствует).

Иммунофенотипические характеристики заболевания: практически у всех пациентов CD15 и HLA-DR были позитивны; в большинстве случаев позитивны маркеры CD56, CD14, MPO, CD13 и/или CD33; у небольшого числа пациентов были позитивны также CD117, CD37. При цитогенетическом исследовании транслокация t(8;16)(p11;p13) встречалась как единственная аберрация. Один педиатрический пациент изначально имел нормальный кариотип; транслокация t(8;16)(p11;p13) появилась при рецидиве заболевания после спонтанной полной ремиссии. При молекулярно-биологическом исследовании была выявлена гиперэкспрессия генов *HOXA11*, *HOXA10*, *RET*, *PERP* и *GGA2*, которая встречается и у пациентов с *MLL*-реаранжировкой. Гиперэкспрессия генов *PERP* и *GGA2* – высокоспецифичный признак транслокации t(8;16)(p11;p13), однако в настоящее время нет данных относительно роли гиперэкспрессии вышеперечисленных генов в лейкогенезе.

Терапия была проведена 49 из 57 пациентов (у 5 пациентов информация о проведенной терапии отсутствует); 6 пациентам была выполнена алло-ТГСК; у 3 больных терапия включала ауто-ТГСК. Пятилетняя общая выживаемость у пациентов с транслокацией составила 59%, бессобытийная выживаемость – 57%; общая частота рецидива – 28%, что схоже с общей выживаемостью у детей с ОМЛ. У 7 новорожденных с транслокацией t(8;16)(p11;p13), находившихся под пристальным наблюдением, но без лечения, была зафиксирована спонтанная ремиссия: трое из них остаются в длительной полной ремиссии (CCR), у остальных возник рецидив (медиана рецидива – 17 мес.). Пациентка в CCR, заболевание которой предположительно было вызвано приемом вальпроевой кислоты [9], остается под наблюдением.

Т. Haferlach и соавт. провели исследование среди взрослых пациентов с ОМЛ t(8;16)(p11;p13) и также подтвердили редкость данной цитогенетической аномалии (0,2%; n = 13/6124), однако пациенты этой группы отличались плохим ответом на терапию (медиана общей выживаемости – 4,7 мес.) и уникальными биологическими характеристиками [10]. У взрослых пациентов большая часть ОМЛ с t(8;16)(p11;p13) была связана с проведенной терапией других злокачественных заболеваний (вторичный ОМЛ). Исследование показало, что клиническая картина и

Рисунок 4Типы и частота транскриптов слияния *KAЕ6A(MOZ)-CBP* [12]

биологические характеристики заболевания были сходны со случаями ОМЛ с реаранжировкой гена *MLL*. У большинства пациентов отмечался эритрофагоцитоз – так же, как у пациентов детского возраста. Экспрессия маркера CD-56 имела у пациентов с эритрофагоцитозом и поражением кожи. Этот поверхностный мембранный маркер присутствовал у 71% взрослых пациентов с транслокацией *t(8;16)(p11;p13)*. *М. Camos и соавт.* описали характерный профиль генной экспрессии *KAЕ6A-CBP* ОМЛ с гиперэкспрессией *RET* и пролактина и паттерн экспрессии генов гомеобокса (*HOX*) у взрослых с данной транслокацией [6]. *М. Diaz-Beya и соавт.* предположили, что повышенная экспрессия каждой из перечисленных молекул *mirRNA* *miR-15b*, *-195* и *-218* может влиять на экспрессию *RET* [11]. В группе пациентов детского возраста с транслокацией *t(8;16)(p11;p13)* также была выявлена гиперэкспрессия протоонкогена *RET* [4]. Эти наблюдения показывают сходство профилей генной экспрессии у взрослых и пациентов детского возраста. Частота возникновения врожденных случаев ОМЛ с транслокацией *t(8;16)(p11;p13)* у детей и тот факт, что у взрослых этот подтип лейкоза связан с проведенной химиотерапией, могут указывать на внутриутробную чувствительность генома к генотоксическому стрессу. Подобную ситуацию можно наблюдать в случае ОМЛ с *MLL*-реаранжировкой, где триггером заболевания могут быть ингибиторы ДНК-топоизомеразы II.

В работе *Т. Hanade и соавт.* описана зависимость прогноза ОМЛ с транслокацией *t(8;16)(p11;p13)* от возраста пациентов и полученной химиотерапии [12]. ОМЛ с данной транслокацией у взрослых пациентов

преимущественно связан с проведенной терапией и имеет неблагоприятный прогноз, а у пациентов детского возраста заболевание имеет более благоприятное течение. Авторы описывают случай девочки с врожденным ОМЛ с транслокацией *t(8;16)(p11;p13)*, имеющей характерную клиническую картину (очаги поражения на коже, морфологический вариант M5b по FAB), которая достигла долгосрочной полной ремиссии (> 10 лет), получив лечение согласно протоколу AML99. Такие же выводы делают *Т. Daifu и соавт.*, описавшие случаи врожденных ОМЛ с *KAЕ6A-CBP*, леченных только химиотерапией [13].

Известны семь типов транскриптов слияния *KAЕ6A(MOZ)-CBP* (рис. 4) [12]. Тип I наиболее часто встречается у взрослых; ОМЛ при этой форме заболевания имеет плохой прогноз. Типы VI и VII выявлены только у пациентов детского возраста.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Острый миелоидный лейкоз в *t(8;16)(p11;p13)* встречается у пациентов всех возрастов с равным распределением пациентов по полу. У детей этот тип лейкоза диагностируется в основном как первичный ОМЛ, тогда как у взрослых он возникает преимущественно вторично. Разница в прогнозах у взрослых и педиатрических пациентов, возможно, зависит от типа *KAЕ6A-CBP* химерного транскрипта. Многие описанные случаи подтверждают идею о том, что дети с ОМЛ *t(8;16)(p11;p13)* имеют более благоприятный прогноз, однако необходимо исследование с большим количеством пациентов с этим типом ОМЛ, чтобы подтвердить это и выявить клиническую значимость различных типов транскриптов *KAЕ6A-CBP*. Уникальные клинические и биологические характеристики ОМЛ с *t(8;16)(p11;p13)* требуют более глубокого его изучения и, возможно, выделения в отдельную подгруппу ОМЛ.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

В.Е. Матвеев <http://orcid.org/0000-0002-8709-5238>
И.И. Калинина <http://orcid.org/0000-0002-0813-5626>
У.Н. Петрова <http://orcid.org/0000-0002-1258-8281>
М.Э. Дубровина <http://orcid.org/0000-0001-8228-4876>
А.С. Старовойтова <http://orcid.org/0000-0002-3115-3427>
А.А. Масчан <http://orcid.org/0000-0002-0016-6698>

Литература

1. Баровская Ю.А. Современные аспекты диагностики и лечения острого миелоидного лейкоза у детей (обзор литературы). Вопросы гематологии/онкологии и иммунологии в педиатрии, 2015; 14 (3): 48–54.
2. Рукавицын О.А. Гематология: национальное руководство. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, с. 183.
3. Rubnitz J.E. How I treat pediatric acute myeloid leukemia. Blood 2012; 119 (25): 5980–8.
4. Coenen E.A., Zwaan C.M., Reinhardt D., Harrison C.J., Haas O.A., de Haas V., Mihál V., et al. Pediatric acute myeloid leukemia with t(8;16)(p11;p13), a distinct clinical and biological entity: a collaborative study by the International-Berlin-Frankfurt-Munster AML-study group. Blood 2013; 122 (15): 2704–14.
5. Mo J., Lampkin B., Perentesis J., Poole L., Bao L. Translocation (8;18;16)(p11;q21;p13). A new variant of t(8;16)(p11;p13) in acute monoblastic leukemia: case report and review of the literature. Cancer Genetics and Cytogenetics 2006; 165: 75–8.
6. Haferlach T., Kohlmann A., Klein H.U., Ruckert C., Dugas M., Williams P.M., Kern W., et al. AML with translocation t(8;16)(p11;p13) demonstrates unique cytomorphological, cytogenetic, molecular and prognostic features. Leukemia 2009; 23: 934–43.
7. Баровская Ю.А., Алейникова О.В. Результаты лечения острого миелоидного лейкоза у детей по протоколу ОМЛ-ММ-2006 в Республике Беларусь. Медицинский журнал, 2014, 4 (50): 56–9.
8. Maschan M., Shelikhova L., Ilushina M., Kurnikova E., Boyakova E., Balashov D., et al. TCR-alpha/beta and CD19 depletion and treosulfan-based conditioning regimen in unrelated and haploidentical transplantation in children with acute myeloid leukemia. Bone Marrow Transplant 2016 May; 51 (5): 668–74.
9. Williams D.C. Jr., Massey G.V., Russell E.C., Riley R.S., Ben-Ezra J. Translocation-positive acute myeloid leukemia associated with valproic acid therapy. Pediatr Blood Cancer 2008; 50 (3): 641–3.
10. Camós M., Esteve J., Jares P., Colomer D., Rozman M., Villamor N., Costa D., Carrió A., Nomdedéu J., Montserrat E., Campo E. Gene expression profiling of acute myeloid leukemia with translocation t(8;16)(p11;p13) and MYST3-CREBBP rearrangement reveals a distinctive signature with a specific pattern of HOX gene expression. Cancer Res 2006; 66: 6947–54.
11. Díaz-Beyá M., Navarro A., Ferrer G., Díaz T., Gel B., Camós M., Pratcorona M., Torreadell M., Rozman M., Colomer D., Monzo M. and Esteve J. Acute myeloid leukemia with translocation (8;16)(p11;p13) and MYST3-CREBBP rearrangement harbors a distinctive microRNA signature targeting RET proto-oncogene. Leukemia 2013 Mar; 27 (3): 595–603.
12. Hanada T., Kanamitsu K., Chayama K., Miyamura T., Kanazawa Y., Muraoka M., Washio K., et al. A Long-term Survivor after Congenital Acute Myeloid Leukemia with t(8; 16)(p11; p13). Acta Med Okayama 2006; 70 (1): 31–5.
13. Daifu T., Kato I., Kozuki K., Umeda K., Hiramatsu H., Watanabe K., Kamiya I., et al. The clinical utility of genetic testing for t(8;16)(p11;p13) in congenital acute myeloid leukemia. Journal of Pediatric Hematology Oncology 2014; 36: 325–7.

Синдром Кабуки

И.В. Кондратенко^{1, 4}, Е.Н. Суспицын^{2, 3}, С.С. Вахлярская¹,
А.А. Бологов^{1, 4}, Е.Н. Имянитов^{2, 3}

¹ ФГБУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава России, Москва

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова»

Минздрава России, Санкт-Петербург

³ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»

Минздрава России, Санкт-Петербург

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

Синдром Кабуки (*Kabuki syndrome* – KS) – редкое наследственное заболевание, характеризующееся специфическими морфологическими изменениями лица, отставанием в росте, различными пороками развития и интеллектуальной недостаточностью различной степени. Основная причина развития KS – мутации гена *KMT2D* (KS 1-го типа, около 70% пациентов); мутации гена *KDM6A* – основа KS 2-го типа, который встречается значительно реже (менее 5% пациентов). Большинство мутаций гена *KMT2D* формируются *de novo*; описаны случаи аутосомно-доминантного наследования. KS 2-го типа имеет сцепленное с полом (X-сцепленное) наследование. Оба гена функционируют через модификации гистонов как эпигенетические модуляторы в процессе эмбриогенеза, а также при некоторых биологических процессах. Мутации различных генов, вовлеченных в эпигенетическую регуляцию, являются причиной формирования заболеваний, характеризующихся наличием дефектов развития, задержки роста, врожденных пороков различных органов, гематологических и иммунологических нарушений. У большинства пациентов с KS отмечается повышенная склонность к инфекционным заболеваниям, выявляется снижение концентрации сывороточных иммуноглобулинов, у некоторых из них развиваются аутоиммунные осложнения (тромбоцитопеническая пурпура, гемолитическая анемия и др.). В статье представлены обзор литературы и описание клинического случая генетически подтвержденного KS 2-го типа с характерными фенотипическими проявлениями, иммунодефицитом и аутоиммунными цитопениями.

Ключевые слова: синдром Кабуки, ген *KMT2D*, ген *KDM6A*, врожденные пороки развития, эпигенетическая регуляция, иммунодефицит, аутоиммунные цитопении.

Контактная информация:

Вахлярская Светлана Сергеевна, канд. мед.наук, врач отделения клинической иммунологии и ревматологии Российской детской клинической больницы Минздрава России.

Адрес: 119571, Москва, Ленинский проспект, 117
Тел.: 8 (495) 935-6412

E-mail: vahlyarskaya@mail.ru

Kabuki syndrome

I.V. Kondratenko^{1, 4}, E.N. Suspitsin^{2, 3}, S.S. Vakhlyarskaya¹, A.A. Bologov^{1, 4}, E.N. Imyaninov¹

¹ Russian Children's Clinical Hospital Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

² Petrov National Medical Research Center of Oncology, Saint-Petersburg

³ Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Saint-Petersburg

⁴ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow

Kabuki syndrome (KS) is a rare inherited disease that consists of a specific morphological changes in the face, short stature, various organ malformations, variable degree of intellectual disability. Mutations in *KMT2D* gene have been identified as the main cause for KS type 1 (KS type 1 about 70% of patients), whereas mutations in *KDM6A* gene causes KS type 2 are a much less frequent (less than 5% of patients). Most mutations of *KMT2D* are private *de novo* mutations; familial occurrence with an autosomal dominant pattern has also been reported. KS type 2 (caused by mutations in a second gene, *KDM6A*) has X-linked inheritance. Both genes functioning as epigenetic modulators through histone modifications in the course of embryogenesis and in several biological processes. Different human disorders are caused by mutations of genes involved in the epigenetic regulation, all these share developmental defects, disturbed growth, multiple congenital organ malformations, and also hematological and immunological defects. In particular, most KS patients show increased susceptibility to infections and have reduced serum immunoglobulin levels, while some suffer also from autoimmune manifestations, such as idiopathic thrombocytopenic purpura, hemolytic anemia and other. This article provides a review of the literature and a description of the case report of a patient with genetically confirmed KS type 2, with characteristic phenotypic manifestations, congenital malformations, immunodeficiency and autoimmune cytopenias.

Key words: *Kabuki syndrome*, *KDM6A* gene, *KMT2D* gene, congenital malformations, epigenetic regulation, immunodeficiency, autoimmune cytopenias.

Синдром Кабуки (*Kabuki syndrome* – KS) – клинически и генетически гетерогенное заболевание, впервые описанное в 1981 году [1, 2]. KS 1-го типа (KS 1) – аутосомно-доминантное заболевание, которое вызывают гетерозиготные патогенные мутации гена *KMT2D* (другое его название – *MLL2*), кодирующего лизин-специфическую метилтрансферазу 2D (*lysine-specific methyltransferase 2D*). Ген *KMT2D* расположен на хромосоме 12q13.12

[3]. KS 2-го типа (KS 2) – X-сцепленное заболевание, его вызывают гетерозиготные патогенные мутации гена *KDM6A*, кодирующего гистон-деметилазу, взаимодействующую с *KMT2D*. Ген *KDM6A* расположен на X-хромосоме (Xp11.3) [4–8].

Частота встречаемости KS составляет в Японии 1:32 000, а в западных странах – 1:86 000; но в основном это относится к KS 1 (70% пациентов), KS 2 выявляют значительно реже (< 5% пациентов) [9].

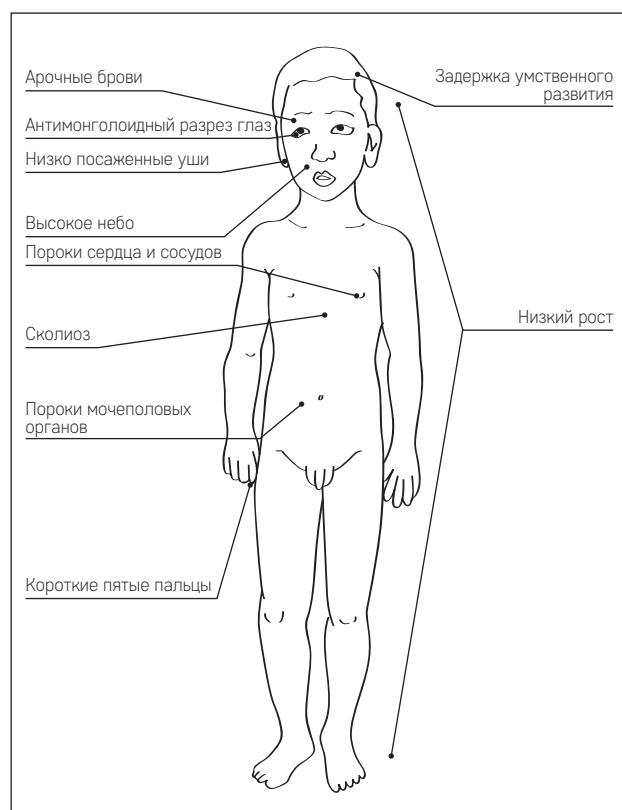
Correspondence:

Svetlana S. Vakhlyarskaya, MD, pediatrician immunologist, Russian Children's Clinical Hospital of the Ministry of Health of Russia. Address: Russia, 119571, Moscow, Leninskii prospect, 117
Tel.: +7 (495) 935-6412
E-mail: vahlyarskaya@mail.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-3-75-83

Рисунок 1

Основные фенотипические маркеры синдрома Кабуки



[Niikawa N., Matsuura N., Fukushima Y., et al. Kabuki make-up syndrome: a syndrome of mental retardation, unusual facies, large and protruding ears, and postnatal growth deficiency. *J Pediatr* 1981; 99: 565–9]

Характерные фенотипические проявления KS: аномалии лицевого скелета в виде низко посаженных ушей, антимонголоидного разреза глаз, выворота наружного края нижнего века, арочных бровей; расщелины неба; аномалии скелета в виде брахидактилии, сколиоза; пороки сердца; постнатальная задержка роста (рис. 1) [10–12]. Среди других проявлений описаны рецидивирующие инфекции, аутоиммунные заболевания, иммунологические и эндокринологические нарушения [13, 14].

Молекулярные нарушения при KS

KMT2D принадлежит к семейству генов смешанно-клеточной лейкемии (*mixed-lineage leukemia* – MLL), необходимых для эмбриогенеза, и функционирует как усилитель и промотор экспрессии других генов. *KMT2D* кодирует большой мультидоменный протеин, взаимодействующий с комплексом SET1/COMPASS. *KDM6A* является кофактором, физически связанным с комплексом *KMT2D*-COMPASS, и проявляет деметилазную активность в гистоне 3. Вместе компоненты комплекса *KMT2D*-COMPASS удаляют ингибирующие эпигенетические метки и добавляют активирующие метки, в частности, осуществляют моно-, ди- или триметилирование гистона 3 [15]. *KMT2D* участвует в регуляции сотен генов посредством контроля усиливающих и

промоторных элементов. Дефекты *KMT2D* ведут к нарушению синтеза лизин-специфической метилтрансферазы 2D, имеющей доминантно-негативное влияние на взаимодействующие с ней протеины, и приводят к сложному, гетерогенному врожденному фенотипу. *KDM6A* кодирует деметилазу лизина 6A, которая прикрепляется к гистону 3 так же, как *CHD7* (*Chromodomain-Helicase-DNA-bindingprotein 7*), при дефектах которого развивается CHARGE-синдром (*Coloboma, Heartdefects, choanal atresia, retarded growth and development, genital abnormalities, and ear anomalies*), участвует в контроле программ экспрессии генов с помощью ремоделирования хроматина в эмбриональных стволовых клетках и клетках других типов [16–18].

Метилирование лизина 4 в гистоне 3 (H3K4) катализируется протеинами MLL (включая *KMT2D*) в активно транскрибируемых генах, в то время как метилирование лизина 27 (H3K27) катализируется *EZH2* (*Enhancer of zeste homolog 2*) и связано с репрессией транскрипции. Процесс может завершиться моно-, ди- или триметилированием. Информация, ассоциированная с посттрансляционными модификациями хроматина, передается протеинами, содержащими участки, способные направлять эпигенетические метки, такие как ацетил-лизин-прикрепляющие бромодомены и метил-прикрепляющие хромодомены. Кроме того, динамический характер системы обеспечивают ферменты, способные «стирать» ацетильные метки, – гистондеацетилазы (*histone deacetylases* – HDAC) и метильные метки – гистондеметилазы (*histone demethylases* – HDM), к которым относится *KDM6A*. Результат динамического взаимодействия этих ферментов – контроль ответа клеток на внешние сигналы в виде дифференцировки, активации и пролиферации [19–22]. При встрече с антигеном наивные CD4⁺ Т-лимфоциты размножаются и в зависимости от сигналов, передаваемых цитокинами клеток врожденного иммунитета, дифференцируются в одну из нескольких эффекторных субпопуляций – Th1, Th2, Th17 или Treg и обеспечивают защиту от патогенов и иммунную толерантность [19–23]. Th1-клетки образуются под влиянием IL-12, IFN γ , IL-18, IL-23, IL-27. Они секретируют IFN γ , IL-2, IL-3, TNF α , TNF β , GM-CSF. Транскрипционные факторы, способствующие образованию Th1 – STAT1, STAT4, T-bet. Ключевой цитокин Th1-клеток – IFN γ , который реализует их основной эффект – активацию макрофагов, одновременно подавляя развитие и активность Th2-клеток. Th1 осуществляют регуляцию многих реакций клеточного иммунитета, включая гиперчувствительность замедленного типа и активацию цитотоксических лимфоцитов. Кроме того, Th1 стимулируют продукцию В-лимфоцитами опсонизирующих антител класса IgG, запускающих каскад активации комплемента.

Развитие избыточного воспаления с последующим повреждением тканей напрямую связано с активностью Th1-субпопуляции.

Th2-клетки образуются под влиянием IL-4. Они секретируют IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-11, IL-13, IL-21, IL-25. Транскрипционные факторы, способствующие образованию Th2, – STAT6, GATA3. Функции Th2 в значительной степени определяются секрецией IL-4. Наиболее важные эффекты цитокина – обеспечение пролиферации активированных В-клеток и секреции ими большого количества антител разных классов, особенно IgE, участие в развитии тучных клеток. Важные цитокины, продуцируемые Th2-клетками, – IL-13 и IL-5; при этом IL-13 воспроизводит большую часть эффектов IL-4, стимулирует продукцию слизи эпителиоцитами, а IL-5 обеспечивает развитие эозинофилов и служит для них хемотактантом.

Th17-клетки – субпопуляция, названная по их ключевому цитокину, дифференцируется из активированных CD4⁺-лимфоцитов независимо от Th1 и Th2. Их развитие направляют другие цитокины – IL-6, TGFβ, IL-23. Цитокины, секретируемые Th1 и Th2-клетками, подавляют развитие Th17. Основным транскрипционным (дифференцировочным) фактором, способствующим образованию Th17 у человека, служит ROR-γC (*retinoic acid-related orphan receptor-C*). Эти клетки секретируют IL-21 и два цитокина семейства IL17 – IL-17A и IL-17F; они осуществляют противогрибковую и антимикробную защиту эпителиальных и слизистых барьеров. Продуцируемый Th17 IL-22 усиливает выработку G-CSF, стимулирующего образование нейтрофилов. Мобилизуя нейтрофилы, Th17 участвуют в защите от грамотрицательных бактерий. Обладая провоспалительной активностью, Th17 играют роль в поддержании хронического воспаления.

Естественные Treg развиваются в тимусе. Необычность их дифференцировки состоит в приобретении ими супрессорных свойств, определяемых экспрессией гена *FOXP3*, а также сохранением способности распознавать с высоким сродством собственные антигены (эти клетки не проходят отрицательной селекции). Экспрессия *FOXP3* делает эти тимоциты устойчивыми к апоптозу, в результате чего при контакте с дендритными и эпителиальными клетками медуллярной зоны выживают клетки, распознающие собственные антигены с высокой степенью сродства. Селекция клонов регуляторных Т-клеток – «агонист-зависимая», поэтому зрелые Treg имеют большее сродство TCR к аутоантигенам, чем другие Т-лимфоциты. По завершении дифференцировки регуляторные Т-клетки экспрессируют мембранные молекулы, необходимые для выполнения их функций CTLA-4, GITR, PD-1, и вырабатывают супрессорные цитокины – IL-10 и TGFβ (*Transforming*

growth factor beta).

Адаптивные Treg формируются из CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺-лимфоцитов на периферии иммунной системы в процессе иммунного ответа – этот процесс называется конверсией. Для образования таких клеток необходимо воздействие толерогенных (незрелых) дендритных клеток, несущих костимулирующие молекулы. Дифференцировку в сторону Treg определяет воздействие на CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺-клетки TGFβ совместно с IL-2. Главные мишени регуляторных Т-клеток – CD4⁺CD25⁺ и CD8⁺-лимфоциты. Для реализации супрессорного эффекта нужен прямой контакт регуляторных Т-лимфоцитов с клетками-мишенями. Молекула CTLA-4, экспрессируемая на поверхности Treg, взаимодействует с CD80/86 антиген-презентирующими клетками, конкурируя за связывание с CD28 Т-клетками, а также убирает лиганды с антиген-презентирующих клеток с помощью трансэндоцитоза, в результате чего они становятся неспособными к CD28-опосредованным костимуляционным сигналам.

Индукция процесса дифференцировки определяется активацией конкретных транскрипционных факторов: T-box21 (также известный как Tbet) – для Th1; Gata 3 – для Th2; RORγt – для Th17 и FOXP3 – для Treg после индукции мембранных рецепторов соответствующими лигандами. Тонкая настройка дифференцировки клеток зависит от эпигенетических механизмов, в том числе таких, как активирующие и репрессирующие метки в гистоне 3 [19–23]. Таким образом, *KMT2D* и *KDM6A*, участвующие в эпигенетической регуляции, оказывают существенное влияние на развитие иммунокомпетентных клеток, поэтому у многих пациентов с KS развиваются нарушения со стороны иммунной системы, приводящие к нарушениям противоинфекционной резистентности и иммунорегуляторным расстройствам (рис. 2).

Рисунок 2

Схематическое изображение влияния генов *KMT2D* и *KDM6A* на иммунокомпетентные клетки

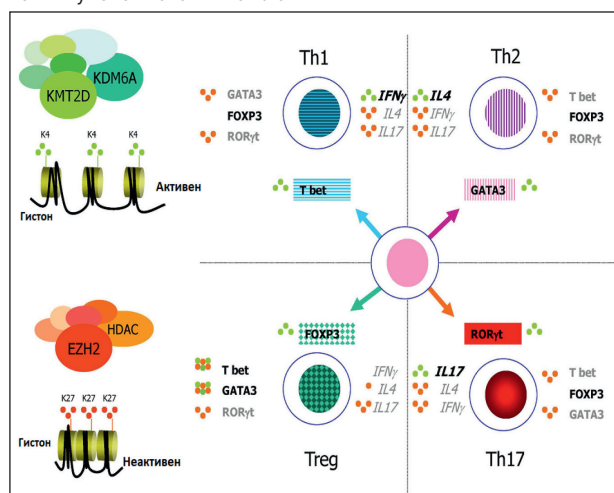
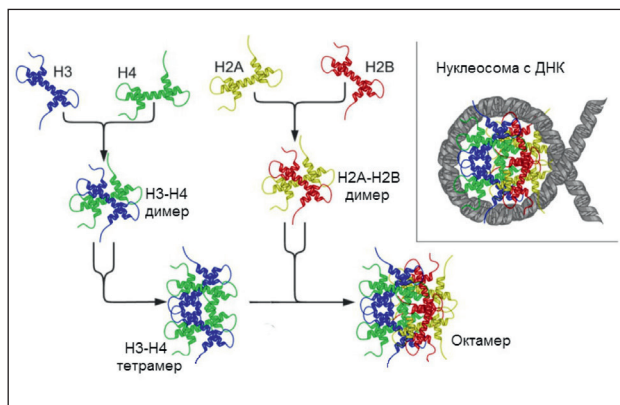


Рисунок 3

Гистоны [Википедия]



Гистоны – обширный класс ядерных белков, выполняющих две основные функции: они участвуют в упаковке нитей ДНК в ядре и в эпигенетической регуляции ядерных процессов – транскрипции, репликации и репарации. Существует пять различных типов гистонов: H1/H5, H2A, H2B, H3, H4. Гистоны H2A, H2B, H3, H4 формируют нуклеосому – белковую глобулу, вокруг которой накручена нить ДНК. Гистон H1/H5 связывается с внешней стороной нуклеосомы, фиксируя на ней нить ДНК (рис. 3).

Под эпигенетической регуляцией понимают механизмы изменения экспрессии генов, не затрагивающие последовательность нуклеотидов в ДНК. Эпигенетические изменения сохраняются в ряде митотических делений соматических клеток, а также могут передаваться следующим поколениям. Примеры эпигенетических изменений – метилирование ДНК и деацетилирование гистонов. Эпигеном – это множество молекулярных меток, регулирующих активность генов, но не изменяющих первичную структуру ДНК.

Врожденные аномалии при KS

Лица пациентов с KS напоминают маски актеров японского театра Кабуки – отсюда и название заболевания [24, 25]. Характерные изменения лица включают арочные брови, выворот латерального края нижнего века, антимонголоидный разрез глаз, большие низко расположенные уши. К другим аномалиям лицевого скелета относятся расщелины неба, аномалии развития зубов, гиподонтия. Реже встречаются косоглазие, голубые склеры, длинные ресницы, микрогнатия. Изменения лицевого скелета выявляются в раннем возрасте и по мере взросления становятся более гротескными, особенно выражен выворот наружного края нижнего века (рис. 4).

Характерный признак – наличие фетальных подушечек на пальцах. К скелетным аномалиям у пациентов с KS относятся укорочение пятых пальцев кистей, сколиоз, гипермобильность суставов (рис. 5).

Рисунок 4

Внешний вид больных с синдромом Кабуки



Серия фотографий пациентов с характерными чертами синдрома Кабуки в разном возрасте: а – 2 мес.; б – 18 мес.; в – 5 лет; г – 12 лет; д – 22 года; е – отставание в росте.

[Wessels M.W., Brooks A.S., Hoogeboom J., et al. Kabukis syndrome: a review of three hundred patients. *Clinical Dysmorphology* 2002, 11: 95–102]

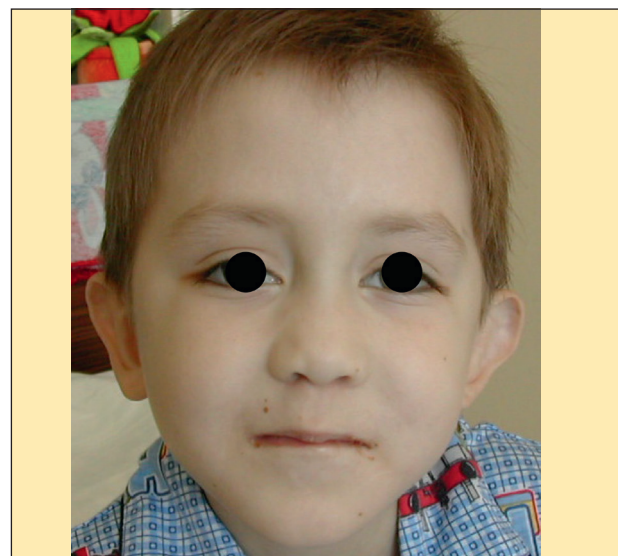


Фото пациента с синдромом Кабуки

Рисунок 5

Короткие пальцы с фетальными подушечками



[<http://kabukisynndrome.com/content/musculoskeletal-summary>]

Висцеральные аномалии затрагивают различные органы. Пороки сердца (септальные дефекты и дефекты выходного тракта – коарктация аорты, двустворчатый аортальный клапан) встречаются наиболее часто (в 32–58% случаев) [25, 26].

Аномалии урогенитального тракта (гидронефроз, эктопированные подковообразные почки, удвоение чашечно-лоханочного аппарата, дисплазия почек, микропенис) развиваются у 25% пациентов.

Пороки развития гастроинтестинального тракта включают незавершенный поворот кишечника, атрезию ануса, эквентрацию диафрагмы и врожденные диафрагмальные грыжи, реже – билиарную атрезию [25, 27].

Неврологические расстройства в виде разной степени отставания в интеллектуальном развитии, особенности поведения присутствуют у 93% пациентов. Кроме этого, описаны судороги, случаи микроцефалии [25, 28].

Масса тела и рост пациентов с KS при рождении соответствуют норме, но уже на первом году жизни появляются признаки отставания в физическом развитии. Рост взрослых больных, как правило, отстает от нормы более чем на 2,3 SD [25].

Преждевременное половое развитие часто встречается у пациенток с KS, описаны случаи дефицита гормона роста, у взрослых часто наблюдается ожирение [25, 29].

Иммунологические нарушения при KS

Первые симптомы заболевания в виде различных врожденных аномалий, описанных выше, часто выявляют в неонатальном периоде. Пациенты страдают от повторных респираторных инфекций, отитов и пневмоний, однако нередко эти проявления расценивают как следствие врожденных пороков (расщелины неба, гастроэзофагеального рефлюкса) у детей младшего возраста. Каждый инфекционный эпизод имеет хороший ответ на антибактериальную терапию, осложнения развиваются редко.

Оппортунистические тяжелые вирусные инфекции не описаны у больных с KS, однако Эпштейн–Барр вирусная инфекция и связанный с ней повышенный риск развития лимфопролиферативных заболеваний и аутоиммунных цитопений выше, чем в популяции. Гранулематозное интерстициальное заболевание легких в сочетании с тромбоцитопенией было выявлено у двух пациентов с KS [30, 31]. Аллергические проявления (ринит, астма, дерматит), а также лимфоидная гиперплазия встречаются редко [10, 25].

Среди лабораторных иммунных нарушений – снижение одного или нескольких классов сывороточных иммуноглобулинов (дефицит IgA встречается у 80% пациентов [32–34], возможно повышение IgE) [10]. Содержание циркулирующих Т- и В-лимфоцитов, а также TREC (*T cell receptor excision circles*) и KRECS (*kappa-deleting recombination excision circles*), отражающих выход наивных Т- и В-клеток из тимуса и костного мозга соответственно, нормальное [35]. Пролиферация Т-клеток *in vitro* и формирование специфических антител после иммунизации не страдают у большинства пациентов, однако у некоторых существенно нарушены [34–37]. Нейтропения, нарушение продукции кислородных радикалов нейтрофилами и дефекты компонентов комплемента не были выявлены ни у одного из описанных больных [33, 35]. Более тщательные исследования состояния иммунной системы у пациентов с KS выявили у них существенное снижение В- и Т-клеток памяти, что объясняет развитие дисгаммаглобулинемии и иммунорегуляторных расстройств. *KMT2D* присоединяет различные факторы, включая *PTIP* (*pairedbox – PAX, transactivation domain – inter acting protein*), который играет ключевую роль в терминальной дифференцировке В- и Т-клеток. *PTIP* участвует в восстановлении двунитевых разрывов ДНК во время процесса реаранжировки при переключении классов иммуноглобулинов (*class-switch recombination – CSR*) и Т-клеточных рецепторов [15, 20, 21, 38, 39]. Дисфункция иммунной системы – обычное проявление KS, фенотипически напоминающее общую вариабельную иммунную недостаточность. Нарушения формирования переключенных и непереключенных В-клеток, Th17 и Treg объясняют феномен иммунной дисрегуляции. Клиническими проявлениями этого феномена у пациентов с KS являются аутоиммунными: идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (характеризуется хроническим или рецидивирующим течением), Кумбс-позитивная гемолитическая анемия, аутоиммунный тиреоидит, витилиго, неврологические расстройства, сахарный диабет, артрит, нефрит, целиакия, болезнь Крона [5, 30, 31, 40–49, 51, 52]. У единичных пациентов описаны случаи развития гемобластозов [53].

Принципы терапии KS

Врожденные аномалии у пациентов с KS нередко требуют корректирующих хирургических операций. При рецидивирующих инфекциях применяют антибиотики; на фоне дефицита иммуноглобулинов назначают заместительную терапию внутривенным иммуноглобулином. Лечение аутоиммунных расстройств включает глюкокортикоиды, иммуносупрессивные препараты (мофетила микофенолат), биологические генно-инженерные препараты (ритуксимаб). Есть единичные сообщения о проведении спленэктомии при рефрактерной иммунной тромбоцитопении [36, 43, 50, 53–56]. Подробного анализа схем терапии, применяемых при лечении различных осложнений, в литературе нет, стандарты терапии не разработаны, особенно при KS2, частота встречаемости которого крайне низка.

Клинический пример

Мальчик от 1-й беременности, протекавшей на фоне бактериального вагиноза, первых срочных родов на 41-й неделе гестации. Росто-весовые показатели при рождении: масса тела – 3146 г, рост – 54 см.

При рождении были диагностированы порок развития неба (расщелины твердого и мягкого неба) и неполная синдактилия 3-го и 4-го пальцев левой стопы.

В возрасте 9 мес. ребенок получал лечение по поводу бактериального эндокардита, тогда же был выявлен врожденный порок сердца (дефекты межжелудочковой и межпредсердной перегородок) и врожденный порок развития мочеполовой системы (поясничная дистопия подковообразной почки, дисплазия левой удвоенной половины подковообразной почки, гипоспадия, головчатая форма, транзиторный пузырно-мочеточниковый рефлюкс, вторичный пиелонефрит).

В возрасте 2,5 года ребенок был оперирован по поводу порока сердца, после этого начались тяжелые приступы ларингоспазма и бронхообструкции на фоне ОРВИ, разрешавшиеся введением дексаметазона, спазмолитиков. Несколько раз на фоне ларингоспазма регистрировали остановку дыхания, и ребенок получал лечение в отделениях реанимации и интенсивной терапии. В возрасте 5 лет оперирован по поводу расщелины неба (уранопластика).

Перенесенные заболевания: ветряная оспа, частые ОРВИ, сальмонеллез, осложнившийся формированием хронического энтерита, по поводу которого неоднократно получал стационарное лечение.

В возрасте 6 лет у ребенка появились следующие симптомы: иктеричность кожных покровов, темный цвет мочи, фебрильные подъемы температуры тела до 38 °С. С подозрением на вирусный гепатит был госпитализирован в инфекционное отделение – при обследовании вирусный гепатит был исключен. С подозрением на аутоиммунную гемолитическую анемию

ребенка перевели в гематологическое отделение, диагноз был подтвержден; назначен преднизолон – 2 мг/кг/сут. с положительным эффектом. При обследовании выявлено снижение уровня сывороточных иммуноглобулинов, начата регулярная заместительная терапия иммуноглобулином человеческого нормальным для внутривенного введения.

Принимая во внимание низкие показатели сывороточных иммуноглобулинов, инфекционный анамнез, аутоиммунные осложнения в виде гемолитической анемии, был заподозрен первичный иммунодефицит – общая вариабельная иммунная недостаточность или X-сцепленный лимфопролиферативный синдром. Для исключения первичного иммунодефицита ребенок был направлен в отделение клинической иммунологии Российской детской клинической больницы (РДКБ) Минздрава России.

Впервые поступил в отделение клинической иммунологии РДКБ в возрасте 7 лет. При поступлении зарегистрирован лицевой дисморфизм: низко посаженные уши, гипертелоризм, антимонголоидный разрез глаз, аномалии прорезывания зубов. Выявлены неврологические нарушения: установочный горизонтальный нистагм, легкая мозжечковая атаксия, нарушение координационных проб, локальные моторные тики в виде патологических гримас. Грубой задержки интеллектуального развития не отмечено. По данным иммунологического обследования, выявлено снижение уровня сывороточных иммуноглобулинов – IgA (18,1 мг/дл) и IgG (363 мг/дл) при нормальном уровне IgM (83,2 мг/дл); снижение количества CD3+ (40%; $0,8 \times 10^9/\text{л}$); CD4+CD3+ (16%; $0,32 \times 10^9/\text{л}$); CD8+CD3+ (21%; $0,42 \times 10^9/\text{л}$) при нормальном содержании CD19+ (13%; $0,26 \times 10^9/\text{л}$) и повышенном – NK-клеток (47%; $1,0 \times 10^9/\text{л}$). Нагляднее эти данные выглядели бы в виде таблицы с возрастными нормами, но она еще более примитивна, чем описание основных функций Т-хелперов. Кроме того, были выявлены подострое течение Кумбс-позитивой гемолитической анемии, лейкопения и нейтропения.

На основании данных анамнеза (инфекционные заболевания, требующие проведения парентеральной антибактериальной терапии), наличия множественных врожденных пороков и лицевых стигм (низко посаженные уши, гипертелоризм, антимонголоидный разрез глаз, аномалии прорезывания зубов, неполная синдактилия 3-го и 4-го пальцев левой стопы, дефект межпредсердной и межжелудочковой перегородок сердца, врожденная расщелина твердого и мягкого неба, поясничная дистопия подковообразной почки, дисплазия левой удвоенной половины подковообразной почки, гипоспадия, головчатая форма) и иммунологического обследования (снижение уровня IgA, IgG, снижение количества CD3+, повышение количества NK-клеток) у ребенка заподозрен пер-

вичный иммунодефицит – синдром Ди Джорджи.

Пациенту назначили постоянную антибактериальную и противогрибковую терапию, ежемесячное внутривенное введение иммуноглобулина человеческого нормального, колониестимулирующие факторы по поводу нейтропении. В дальнейшем пациента наблюдали в отделении клинической иммунологии РДКБ. В течение нескольких лет его состояние оставалось относительно стабильным, цитопении не регистрировали; проба Кумбса была отрицательной. Периодически отмечали эпизоды апное, развивающиеся на фоне острого ларингоспазма, которые купировали ингаляциями пульмикорта, введением дексаметазона.

В возрасте 13 лет у пациента были вновь зарегистрированы цитопении: тромбоцитопения (18×10^9 тыс/мкл), лейкопения ($1,8 \times 10^9$ /л) и нейтропения (180 кл/мкл), подостротекущая Кумбс-позитивная гемолитическая анемия, в связи с чем был проведен курс терапии ритуксимабом в дозе 375 мг/м^2 (всего 6 введений); назначены преднизолон – 0,5 мг/кг и мофетила микофенолат – 50 мг/кг/сут. На фоне проводимого лечения цитопении были купированы. После лечения ритуксимабом у пациента регистрировали снижение уровня IgM (17,5 мг/дл); до его введения ритуксимаба показатели IgM были нормальными при сниженных значениях IgA и IgG. По достижении стойких показателей гемограммы в пределах нормальных значений начали снижать дозу преднизолона вплоть до полной отмены этого препарата (через 1,5 года от начала терапии). Иммуносупрессивную терапию мофетила микофенолатом продолжали. Повторных эпизодов цитопений и рецидивов Кумбс-позитивной гемолитической анемии вплоть до выхода пациента из-под наблюдения не регистрировали.

В возрасте 17 лет 10 мес. рост ребенка составляет 149 см, масса тела – 40 кг. Задержку роста мы связываем как с проявлениями основного заболевания, так и с последствиями неоднократных продолжительных курсов стероидной терапии. По достижении 18 лет пациент выбыл из-под наблюдения с рекомендацией продолжить иммуносупрессивную терапию мофетила микофенолатом с целью профилактики аутоиммунных цитопений, антибактериальную и противогрибковую профилактическую терапию, а также регулярную заместительную терапию иммуноглобулином человеческого нормальным.

С целью уточнения генетических причин иммунодефицита в лаборатории кафедры медицинской генетики Санкт-Петербургского ГПМУ проведено высокопроизводительное мультигенное секвенирование (*Illumina*) с селективным обогащением по последовательностям 302 генов первичных иммунодефицитов. Выявлена ранее не описанная гетерозиготная мутация гена *KMT2D* (с.303dupG; p.S102fs),

приводящая к сдвигу рамки считывания. Ранее в базе ClinVar была описана патогенная мутация, затрагивающая эту же позицию (с.303 delG (p.Ser102Ala_fs, rs797045661)). С учетом выявленной мутации и совокупности клинических признаков, наблюдаемых у пациента (низкорослость, расщелина нёба, ВПС, аномалии мочеполовой системы, подвывих коленных чашечек, гемолитическая анемия), можно предположить наличие у пробанда синдрома грима Кабуки (синдром Ниикава–Куроки). Обследовать родителей не было возможности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Описанный клинический случай – пример успешной терапии пациента с недеференцированным синдромом, по клиническим и иммунологическим признакам напоминающим синдром Ди-Джорджи. В дальнейшем было проведено мультигенное таргетное секвенирование, в результате которого идентифицировано моногенное заболевание. Применение мультигенного секвенирования оправдано при подозрении на наличие многих генетически детерминированных нарушений, в том числе первичных иммунодефицитов. Это связано тем, что для заболеваний этой группы характерно многообразие нозологических форм, при этом клинические и лабораторные признаки не всегда позволяют установить точный диагноз. Кроме того, в поле зрения врачей-иммунологов могут попадать пациенты с исключительно редкими наследственными синдромами, иммунологические изменения при которых недостаточно описаны.

Таким образом, использование мультигенной панели позволяет проводить поиск генетической причины болезни в отсутствие четкой диагностической гипотезы, что не только улучшает проведение патогенетической терапии, но необходимо и для генетического консультирования семьи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-00159а.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

И.В. Кондратенко <http://orcid.org/0000-0003-4834-4075>

Е.Н. Суслицын <http://orcid.org/0000-0001-9764-2090>

С.С. Вахлянская <http://orcid.org/0000-0003-0575-2028>

А.А. Бологов <http://orcid.org/0000-0002-0265-5778>

Е.Н. Имянитов <http://orcid.org/0000-0003-4529-7891>

Литература

1. Niikawa N., Matsuura N., Fukushima Y., Ohsawa T., Kajii T. Kabuki make-up syndrome: a syndrome of mental retardation, unusual facies, large and protruding ears, and postnatal growth deficiency. *J Pediatr* 1981; 99: 565–9.
2. Kuroki Y., Suzuki Y., Chyo H., Hata A., Matsui I. A new malformation syndrome of long palpebral fissures, large ears, depressed nasal tip, and skeletal anomalies associated with postnatal dwarfism and mental retardation. *J Pediatr* 1981; 99: 570–3.
3. Ng S.B., Bigham A.W., Buckingham K.J., Hannibal M.C., McMillin M.J., Gildersleeve H.I., et al. Exome sequencing identifies MLL2 mutations as a cause of Kabuki syndrome. *Nat Genet* 2010; 42: 790–3.
4. Lederer D., Grisart B., Digilio M.C., Benoit V., Crespin M., Ghariani S.C., et al. Deletion of KDM6A, a histone demethylase interacting with MLL2, in three patients with Kabuki syndrome. *AJHG* 2012; 90: 119–24.
5. Miyake N., Mizuno S., Okamoto N., Ohashi H., Shiina M., Ogata K., et al. KDM6A point mutations cause Kabuki syndrome. *Hum Mutat* 2013; 34: 108–10.
6. Lederer D., Shears D., Benoit V., Verellen-Dumoulin C., Maystadt I. A three generation X-linked family with Kabuki syndrome phenotype and a frameshift mutation in KDM6A. *Am J Med Genet A* 2014; 164A: 1289–92.
7. Banka S., Lederer D., Benoit V., Jenkins E., Howard E., Bunstone S., et al. Novel KDM6A (UTX) mutations and a clinical and molecular review of the X-linked Kabuki syndrome (KS2). *Clin Genet* 2015; 87: 252–8.
8. Stagi S., Gulino A.V., Lapi E., Rigante D. Epigenetic control of the immune system: A lesson from Kabuki syndrome. *Immunol Res* 2016; 64: 345–59.
9. Banka S., Veeramachaneni R., Reardon W., Howard E., Bunstone S., Ragge N., et al. How genetically heterogeneous is Kabuki syndrome? MLL2 testing in 116 patients, review and analyses of mutation and phenotypic spectrum. *EJHG* 2012; 20: 381–8.
10. Shah M., Bogucki B., Mavers M. Cardiac conduction abnormalities and congenital immunodeficiency in a child with Kabuki syndrome: case report. *BMC Med Genet* 2005 Jul 25; 6: 28.
11. Moral S., Zuccarino F., Loma-Osorio P. Double Aortic Arch: An Unreported Anomaly with Kabuki Syndrome. *Pediatr Cardiol* 2008; 30: 82–4.
12. Shahdadi R., Lynch S.A., Murchan H., McMahon C.J. A Novel Constellation of Cardiac Findings for Kabuki Syndrome: Hypoplastic Left Heart Syndrome and Partial Anomalous Pulmonary Venous Drainage. *Pediatr Cardiol* 2008; 29: 820–2.
13. Bögershausen N., Wollnik B. Unmasking Kabuki syndrome. *Clin Genet* 2013; 83: 201–1.
14. Cheon C.-K., Ko J.M. Kabuki syndrome: Clinical and molecular characteristics. *Korean J Pediatr* 2015; 58: 317–24.
15. Stagi S., Gulino A.V., Lapi E., Rigante D. Epigenetic control of the immune system: A lesson from Kabuki syndrome. *Immunol Res* 2016; 64: 345–59.
16. Schulz Y., Freese L., Mänz J., Zoll B., Völter C., Brockmann K., et al. CHARGE and Kabuki syndromes: a phenotypic and molecular link. *Hum Mol Genet* 2014 Aug 15; 23 (16): 4396–405.
17. Patel N., Alkuraya F.S. Overlap between CHARGE and Kabuki syndromes: more than an interesting clinical observation? *Am J Med Genet A* 2015 Jan; 167A (1): 259–60.
18. Butcher D.T., Cytrynbaum C., Turinsky A.L., Siu M.T., Inbar-Feigenberg M., Mendoza-Londono R., et al. CHARGE and Kabuki Syndromes: Gene-Specific DNA Methylation Signatures Identify Epigenetic Mechanisms Linking These Clinically Overlapping Conditions. *Am J Hum Genet* 2017 May 4; 100 (5): 773–88.
19. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell* 2007; 128: 693–705.
20. Wei G., Wei L., Zhu J., Zang C., Hu-Li J., Yao Z., et al. Global mapping of H3K4me3 and H3K27me3 reveals specificity and plasticity in lineage fate determination of differentiating CD4+T cells. *Immunity* 2009; 30: 155–67.
21. Eissenberg J.C., Shilatfard A. Histone H3 Lysine 4 (H3K4) methylation in development and differentiation. *Dev Biol* 2010; 339: 240–9.
22. Venkatesh S., Workman J.L. Histone exchange, chromatin structure and the regulation of transcription. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2015; 16: 178–89.
23. Zhu J., Paul W.E. CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood* 2008; 112: 1557–69.
24. Mhanni A.A., Chudley A.E. Genetic landmarks through philately – Kabuki theater and Kabuki syndrome. *Clin Genet* 1999; 56: 116–7.
25. Wessels M.W., Brooks A.S., Hoogeboom J., Niermeijer M.F., Willems P.J. Kabuki syndrome: a review study of three hundred patients. *Clinical Dysmorphology* 2002; 11: 95–102.
26. Digilio M.C., Marino B., Toscano A., Giannotti A., Dallapiccola B. Congenital heart defects in Kabuki syndrome. *Am J Med Genet* 2001; 100: 269–74.
27. McGaughan J.M., Donnai D., Clayton-Smith J. Biliary atresia in Kabuki syndrome. *Am J Med Genet* 2000; 91: 157–8.
28. Niikawa N., Kuroki Y., Kajii T., Matsuura N., Ishikiriyama S., Tonokim H., et al. Kabuki make-up (Niikawa-Kuroki) syndrome: a study of 62 patients. *Am J Med Genet* 1988; 31: 565–89.
29. Devriendt K., Lemli L., Craen M., de Zegher F. Growth hormone deficiency and premature thelarche in a female infant with Kabuki makeup syndrome. *Horm Res* 1995; 43: 303–6.
30. Kawame H., Hannibal M.C., Hudgins L., Pagon R.A. Phenotypic spectrum and management issues in Kabuki syndrome. *J Pediatr* 1999; 134: 480–5.
31. De Dios J.A., Javadi A.A., Ballesteros E., Metersky M.L. An 18-year-old woman with Kabuki syndrome, immunoglobulin deficiency and granulomatous lymphocytic interstitial lung disease. *Conn Med* 2012 Jan; 76 (1): 15–8.
32. Chrzanowska K.H., Krajewska-Walasek M., Kuś J., Michalkiewicz J.,

- Maziarka D., Wolski J.K., et al. Kabuki (Niikawa-Kuroki) syndrome associated with immunodeficiency. *Clin Genet* 1998 Apr; 53 (4): 308–12.
33. Miyake N., Koshimizu E., Okamoto N., Mizuno S., Ogata T., Nagai T., et al. MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A* 2013; 161A: 2234–43.
 34. Frans G., Meyts I., Devriendt K., Liston A., Vermeulen F., Bossuyt X. Mild humoral immunodeficiency in a patient with X-linked Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A* 2016 Mar; 170 (3): 801–3.
 35. Lin J.L., Lee W.I., Huang J.L., Chen P. K-T., Chan K.C., Lo L.J., et al. Immunologic assessment and KMT2D mutation detection in Kabuki syndrome. *Clin Genet* 2015 Sep; 88 (3): 255–60.
 36. Hostoffer R.W., Bay C.A., Wagner K., Venglaric J., Sahara H., Omair E., et al. Kabuki make-up syndrome associated with an acquired hypogammaglobulinemia and anti-IgA antibodies. *ClinPediatr (Phila)* 1996; 35: 273–6.
 37. White S.M., Thompson E.M., Kidd A., Savarirayan R., Turner A., Amor D., et al. Growth, behavior, and clinical findings in 27 patients with Kabuki (Niikawa-Kuroki) syndrome. *Am J MedGenet A* 2004; 127a: 118–27.
 38. Frenk N.E., Kim C.A., Carneiro-Sampaio M., Orii N.M., Vasconcelos D.M., et al. Basic evaluation of the immunocompetence of Brazilian patients with Kabuki syndrome. *Pediatrics (São Paulo)* 2009; 31: 170–7.
 39. Lindsley A.W., Saal H.M., Burrow T.A., Hopkin R.J., Shchelochkov O., Khandelwal P., et al. Defects of B-cell terminal differentiation in patients with type-1 Kabuki syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2016 Jan; 137 (1): 179–87.
 40. Nako Y., Maruyama K., Sakaguchi M., et al. Two cases of autoimmune hemolytic anemia: a case associated with Kabuki make-up syndrome and a case with IgD as an anti-erythrocyte autoantibody. *J JpnPediatr Soc* 1984; 99: 565–9.
 41. Watanabe T., Miyakawa M., Satoh M., Abe T., Oda Y. Kabuki make-up syndrome associated with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Acta PaediatrJpn.* 1994; 36: 727–9.
 42. Artigas M., Alcazar R., Bel J., Fernandez P., Javier G., Ortega E., et al. Kabuki syndrome and common variable immunodeficiency. *Am J Hum Genet* 1997; 61 (suppl): A91.
 43. McGaughan J., Aftimos S., Jefferies C., Winship I. Clinical phenotypes of nine cases of Kabuki syndrome from New Zealand. *ClinDysmorphol* 2001; 10: 257–62.
 44. Genevieve D., Amiel J., Viot G., Merrer M.Le, Sanlaville D., Urtizberea A., et al. Atypical findings in Kabuki syndrome: report of 8 patients in a series of 20 and review of the literature. *Am J Med Genet* 2004; 129A: 64–8.
 45. Armstrong L., Abd El Moneim A., Aleck K., Aughton D.J., Baumann C., Braddock S.R., et al. Further delineation of Kabuki syndrome in 48 well-defined new individuals. *Am J Med Genet A* 2005; 132A: 265–72.
 46. Gidwani P., Segal E., Shanske A., Driscoll C. Chorea associated with antiphospholipid antibodies in a patient with Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A* 2007; 143A: 1338–41.
 47. Zannoli R., Buoni S., Macucci F., Scarinci R., Viviano M., Orsi A., et al. Kabuki syndrome with trichrome vitiligo, ectodermal defect and hypogammaglobulinemia A and G. *Brain Dev* 2007; 29: 373–6.
 48. Oto J., Mano A., Nakataki E., Yamaguchi H., Inui D., Imanaka H., et al. An adult patient with Kabuki syndrome presenting with Henoch-Schönlein purpura complicated with pulmonary hemorrhage. *J Anesth* 2008; 22: 460–3.
 49. Ho J., Fox D., Innes A.M., McLeod R., Butzner D., Johnson N., et al. Kabuki syndrome and Crohn disease in a child with familial hypocalciuric hypercalcemia. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2010; 23: 975–9.
 50. Brackmann F., Krumbholz M., Langer T., Rascher W., Holter W., Metzler M., et al. Novel MLL2 mutation in Kabuki syndrome with hypogammaglobulinemia and severe chronic thrombopenia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2013 Oct; 35 (7): 314–6.
 51. Giordano P., Lassandro G., Sangerardi M., Faienza M., Valente F., Martire B. Autoimmune haematological disorders in two Italian children with Kabuki syndrome. *Ital J Pediatr* 2014; 40: 10.
 52. Nishizaki N., Fujinaga S., Hirano D., Murakami H., Kamei K., Ohtomo Y., et al. Membranoproliferative glomerulonephritis type 3 associated with Kabuki syndrome. *Clin Nephrol* 2014; 81: 369–73.
 53. Scherer S., Theile U., Beyer V., Ferrari R., Kreck C., Manfred Rister M. Patient with Kabuki syndrome and acute leukemia. *Am J Med Genet A* 2003 Sep 15; 122A (1): 76–9.
 54. Shalev S.A., Clarke L.A., Koehn D., Langlois S., Zackai E.H., Hall J.G., et al. Long-term follow-up of three individuals with Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A* 2004; 125A: 191–200.
 55. Hoffman J.D., Cipraro K.L., Sullivan K.E., Kaplan P.B., McDonald-McGinn D.M., Zackai E.H., Ming J.E. Immune abnormalities are a frequent manifestation of Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A* 2005; 135: 278–81.
 56. Torii Y., Yagasaki H., Tanaka H., Mizuno S., Nishio N., Muramatsu H., et al. Successful treatment with rituximab of refractory idiopathic thrombocytopenic purpura in a patient with Kabuki syndrome. *Int J Hematol* 2009; 90: 174–6.

Факультативная литература

- Ansel K.M., Djuretic I., Tanasa B., Rao A. Regulation of Th2 differentiation and IL4 locus accessibility. *Annu Rev Immunol* 2006; 24: 607–56.
- Murphy K.M., Reiner S.L. The lineage decisions of helper T cells. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 933–44.
- Szabo S.J., Sullivan B.M., Peng S.L., Glimcher L.H. Molecular mechanisms regulating Th1 immune responses. *Annu Rev Immunol* 2003; 21: 713–58.
- Weaver C.T., Hatton R.D., Mangan P.R., Harrington L.E. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 821–52.
- Zhu J., Paul W.E. CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood* 2008; 112: 1557–69.
- Sakaguchi S., Yamaguchi T., Nomura T., Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell* 2008; 133: 775–87.

Лейкоцитокластический васкулит у пациента с синдромом Вискотта–Олдрича после терапии плериксафором и гранулоцитарным колониестимулирующим фактором

С.Н. Козловская, Д.С. Абрамов, И.П. Шипицына, Д.Н. Балашов

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

Leukocytoclastic vasculitis after plerixafor and G-CSF in a patient with Wiskott–Aldrich syndrome

S.N. Kozlovskaya, D.S. Abramov, I.P. Shipitsina, D.N. Balashov

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

У 9-месячного ребенка с синдромом Вискотта–Олдрича (СВО) после окончания трехдневного курса терапии плериксафором в сочетании с гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Г-КСФ), использовавшимися в качестве дополнительных компонентов подготовительной терапии (кондиционирования) перед аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток, было зарегистрировано появление выступающей над поверхностью кожи и болезненной при пальпации макуло-папулезной сыпи с геморрагическим компонентом на нижних конечностях (рис. 1), что сопровождалось развитием фебрильной лихорадки.

В связи с тем, что в анамнезе у пациента имелось аутоиммунное поражение кожи, характерное для СВО,

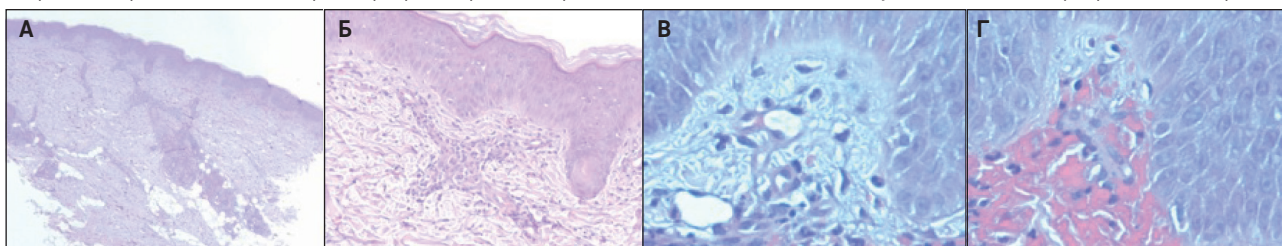
Рисунок 1

Макуло-папулезная сыпь на коже нижних конечностей у пациента с лейкоцитокластическим васкулитом



Рисунок 2

Гистологические изменения у пациента с лейкоцитокластическим васкулитом: А – морфологическая картина «занятой» дермы с поверхностными слабыми периваскулярными воспалительными инфильтратами; Б, В – нейтрофилы расположены преимущественно периваскулярно среди лимфоидного компонента или имеют признаки ангиотропизма; Г – разрушенные нейтрофилы (лейкоцитокластоз) в виде ядерного дебриса, в том числе среди эритроцитарных экстравазатов, местами в стенках сосудов наблюдается фибринозный некроз



а также учитывая развитие клинического ухудшения после терапии плериксафором (антагонистом хемокинового рецептора CXCR4, расположенного в том числе на нейтрофилах) в сочетании с Г-КСФ, данная клиническая симптоматика трактовалась как лейкоцитокластический васкулит. Осложнение характеризуется периваскулярным накоплением нейтрофилов, проникающих через поврежденные иммунными комплексами стенки мелких и средних сосудов, с выраженной воспалительной реакцией, а в некоторых случаях – фибринозным некрозом сосудистой стенки.

В представленном клиническом случае потенциальными факторами риска развития лейкоцитокластического васкулита стали мобилизация нейтрофилов в сосудистое русло посредством плериксафора и Г-КСФ у пациента с аутоиммунным процессом, а также влияние Г-КСФ на увеличение экспрессии молекул адгезии на нейтрофилах. Диагноз был подтвержден гистологическим исследованием биоптата пораженного участка кожи (рис. 2).

После начала терапии метилпреднизолоном в дозе 1 мг/кг достигнуты быстрая редукция и полное исчезновение кожной сыпи в течение 5 дней.

Определение молекулярно-генетических подгрупп медуллобластомы на основании анализа уровня экспрессии генов

А.Е. Друй^{1,2}, Л.И. Папуша¹, Л.А. Ясько¹, Д.М. Коновалов¹, И.Д. Бородин¹, М.Б. Белогурова³, А.Н. Зайчиков⁴, С.Г. Коваленко⁵, Э.Ф. Валиахметова⁶, С.А. Кузнецов⁷, В.Б. Махонин⁸, О.Э. Чулков⁹, Г.Р. Шарапова¹⁰, А.А. Румянцев¹¹, О.Е. Никонова¹², Ю.В. Ольшанская¹, А.И. Карачунский¹, А.А. Масчан¹, Г.А. Новичкова¹

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

² ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург

³ СПб ГБУЗ «Городская клиническая больница № 31», Санкт-Петербург

⁴ ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1», Екатеринбург

⁵ ГБУЗ «Челябинская областная детская клиническая больница», Челябинск

⁶ ФГАУ «Национальный научно-практический центр нейрохирургии им. академика Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва

⁷ ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону

⁸ ГБУЗ «Республиканская детская клиническая больница», Уфа

⁹ ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница», Краснодар

¹⁰ БУ ХМАО «Нижневартовская окружная клиническая детская больница», Нижневартовск

¹¹ КГБУЗ «Алтайская краевая клиническая детская больница», Барнаул

¹² ГБУЗ ПК «Краевая детская клиническая больница», Пермь

В основе клинической гетерогенности медуллобластом лежат различия, выявляемые на молекулярном уровне, в виде неодинакового профиля экспрессии генов, метилирования ДНК и мутационного спектра. Выявление данных различий послужило основанием для создания в 2016 году новой классификации опухолей ЦНС, в которой предусмотрено разделение медуллобластом на молекулярно-генетические подгруппы. Принадлежность медуллобластомы к определенной молекулярно-генетической подгруппе определяет исход заболевания, ответ на проводимую терапию, вероятность развития рецидива и прогноз. В настоящей работе представлены результаты использования технологии *NanoString* для определения молекулярно-генетической подгруппы медуллобластом на 65 гистологических образцах.

Ключевые слова: медуллобластома, дети, молекулярно-генетические подгруппы, *NanoString*, прогноз.

Контактная информация:

Друй Александр Евгеньевич, канд. мед. наук, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории цитогенетики и молекулярной генетики НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.
Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1
Тел.: 8 (495) 287-6570, доб. 5427
E-mail: Dr-Druy@yandex.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-3-85-89

Identification of medulloblastoma molecular subgroups by gene expression profiling

A.E. Druy^{1,2}, L.I. Papusha¹, L.A. Yasko¹, D.M. Konovalov¹, I.D. Borodina¹, M.B. Belogurova³, A.N. Zaychikov⁴, S.G. Kovalenko⁵, E.F. Valiakhmetova⁶, S.A. Kuznetsov⁷, V.B. Makhonin⁸, O.E. Chulkov⁹, G.R. Sharapova¹⁰, A.A. Rumyantsev¹¹, O.E. Nikonova¹², Y.V. Olshanskaya¹, A.I. Karachunskiy¹, A.A. Maschan¹, G.A. Novichkova¹

¹ Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow

² Research Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg

³ City Clinical Hospital #31, St. Petersburg

⁴ Regional Children's Hospital #1, Yekaterinburg

⁵ Chelyabinsk Regional Children's Hospital, Chelyabinsk

⁶ N.N. Burdenko National Research Center of Neurosurgery, Moscow

⁷ Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don

⁸ Republic Children's Hospital, Ufa

⁹ Regional Children's Hospital, Krasnodar

¹⁰ Nizhnevartovsk Regional Children's Hospital, Nizhnevartovsk

¹¹ Altay Regional Children's Hospital, Barnaul

¹² Regional Children's Hospital, Perm

Clinical heterogeneity of medulloblastoma is based on differences in the molecular landscape of the tumor, which include gene expression and DNA methylation profiles and mutational spectrum. WHO classification of CNS malignancies developed in 2016 implies segregation of medulloblastoma entity into 4 distinct molecular subgroups: WNT, SHH, group 3 and group 4. This division defines clinical presentation, response to therapy, risk of tumor recurrence and presents a basis for individualized and risk-adapted treatment conduction. Molecular genetic techniques for medulloblastoma subgrouping are based either on gene expression profiling or investigation of whole-genome DNA methylation. Method used in clinical practice should be reliable, fast, undemanding for preanalytic procedures and robust. For these reasons gene expression analysis by *NanoString* technology can be designated. In the current study we present the first Russian experience in the molecular classification of medulloblastoma based on gene expression profiling by *NanoString* technique. The retrospective analysis of 65 pathologically verified medulloblastoma samples was performed. Among these cases WNT subgroup was revealed in 8, SHH – in 15, group 3 – in 16 and group 4 in 26 patients. The subgroup distribution as well as clinical significance of each tumor type corresponded to the literature data. Notable, that *NanoString* technology allowed achieving reliable data on gene expression from complicated material – formalin-fixed paraffin embedded tissue.

Key words: medulloblastoma, molecular subgroups, prognosis.

Correspondence:

A.E. Druy, MD, PhD, senior researcher
Dmitriy Rogachev National Medical
Research Center of Pediatric
Hematology, Oncology and
Immunology, Ministry
of Health of Russian Federation.
Address: Russia 117997, Moscow,
Samory Mashela st., 1
Tel.: +7 (495) 287-6570, ext. 5427
E-mail: Dr-Druy@yandex.ru

В 2016 году Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) представила новую классификацию опухолей центральной нервной системы (ЦНС), включающую четыре подгруппы медуллобластомы: WNT (*Wingless*), SHH (*Sonic Hedgehog*), подгруппа 3 и подгруппа 4, отличающиеся не только генетическим (экспрессионным, эпигеномным и мутационным) профилем, но и прогнозом, уровнем ответа на терапию и частотой возникновения рецидива [1–3] (табл.). Не вызывает сомнения, что данная классификация станет основой для пересмотра имеющихся и разработки новых протоколов терапии, поэтому необходима надежная, точная и быстрая методика определения подтипа опухоли.

Таблица

Классификация медуллобластом

(Всемирная организация здравоохранения, 2016 г.)

Медуллобластома генетически идентифицированная	Медуллобластома с активацией WNT	9475/3*
	Медуллобластома с активацией SHH и мутации в гене TP53	9476/3
	Медуллобластома с активацией SHH и TP53 дикий тип	9471/3
	Медуллобластома не-WNT/не-SHH ● медуллобластома, группа 3 ● медуллобластома, группа 4	9477/3*
Медуллобластома гистологически идентифицированная	Медуллобластома классическая	9470/3
	Медуллобластома, десмопластическая/нодулярная	9471-3
	Медуллобластома с обширной нодулярностью	9471-3
	Медуллобластома крупноклеточная/анапластическая	9474-3
Медуллобластома неспецифицированная		9470-3

* Обновленные коды Международной классификации заболеваний в онкологии (ICD-O).

Существующие сегодня методы исследования с позиции диагностической эффективности определения подгрупп медуллобластомы можно разделить на основные и второстепенные. Результаты основных методов исследования позволяют достоверно классифицировать опухоль, в то время как второстепенные указывают лишь на ее вероятную принадлежность к той или иной молекулярной подгруппе [1, 4, 5].

К первой группе технологий относятся исследование профиля экспрессии генов, а также полногеномный профиль метилирования ДНК. Данные методики признаны равнозначными и отражают две стороны процесса транскрипции генов. Гиперметилированные гены имеют низкий уровень экспрессии, гипометилированные ЦНС – высокий [6, 7]. На момент открытия подгрупп медуллобластомы (2006–2008 гг.) исследовали профиль экспрессии большого количества генов (более 18 000) на экспрессионных чипах высокой плотности, что предъявляло высокие требования к качеству анализируемой РНК и существенно усложняло преаналитический этап [6]. В 2012 году P.A. Northcott и соавт. показали, что для надежной классификации медуллобластом достаточно знать

уровень мРНК 22 генов, экспрессия которых наиболее значимо различается в клетках опухолей разных подгрупп [8]. Для анализа была выбрана технология *NanoString*, в основе которой лежит гибридизация небольшого специфичного фрагмента мРНК с олигонуклеотидными зондами – репортерным и захватывающим, в результате чего образуется комплекс, состоящий из трех молекул. Репортерный зонд имеет в своем составе цветовой «штрихкод» – уникальную последовательность шести флуорохромов, позволяющих идентифицировать комплекс, а захватывающий зонд несет биотин, обеспечивающий фиксацию комплекса к твердой фазе. В дальнейшем иммобилизованные комплексы подсчитывает флуоресцентный анализатор, а их количество – через этап нормализации по референсным генам – трансформируется в величину экспрессии соответствующих генов. Поскольку участок комплементарного связывания молекулы мРНК и зондов достаточно мал, технология *NanoString* позволяет осуществлять анализ высокофрагментированной РНК, в том числе выделенной из ткани, фиксированной в формалине и залитой в парафиновый блок [9].

К группе второстепенных методов классификации медуллобластом относятся стандартные морфологические и генетические методы. Сочетание ядерной аккумуляции β -катенина и одонуклеотидной замены в экзоне 3 гена *CTNNB1*, которые выявляют с использованием иммуногистохимии и секвенирования по Сэнгеру соответственно, – признак медуллобластомы подгруппы WNT [5]. Результат может быть дополнен определением моносомии 6, но абсолютной специфичностью он не обладает [10, 11]. Нодулярно-десмопластическое гистологическое строение опухоли у детей раннего возраста указывает на принадлежность к подгруппе SHH, однако у более старших пациентов данная зависимость утрачивается. Выявление амплификации гена MYC методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) может служить маркером подгруппы 3, особенно в сочетании с анапластическим гистологическим строением и наличием метастатической диссеминации опухоли. Однако в данном случае чувствительность признаков невысока [5, 10]. Наличие изохромосомы 17q специфично для медуллобластомы подгрупп 3 и 4. При этом необходимо подчеркнуть, что мутации в кодирующей последовательности генов, равно как и абберации, связанные с изменением числа копий генов или хромосомных регионов (делеции или амплификации), с одной стороны, не являются строго специфичными для той или иной подгруппы, с другой – даже наиболее специфичные аномалии не выявляются в абсолютном числе образцов соответствующего молекулярно-генетического варианта. Таким образом, ни одна из указанных аббераций не

может служить основанием для однозначной классификации опухоли в какую-либо подгруппу, а для точной интерпретации должны быть применены современные высокопроизводительные технологии, в особенности для разделения пациентов с опухолями подгрупп 3 и 4, экспрессионный и мутационный спектр которых частично перекрывается, а прогноз принципиально различен [5, 10, 12].

До настоящего времени в России были доступны гистологическое и иммуногистохимическое исследования материала опухоли, выявление отдельных мутаций методом секвенирования по Сэнгеру, определение хромосомных aberrаций и амплификации гена MYC методом флуоресцентной *in situ* гибридизации. С появлением новой классификации ВОЗ этих методов явно недостаточно для стратификации пациентов на группы риска, определения прогноза заболевания и подбора адекватной терапии.

Цель работы – исследование диагностических возможностей технологии *NanoString* для определения молекулярно-генетических подгрупп медуллобластомы в российской когорте пациентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведен ретроспективный анализ клинических и молекулярно-генетических данных 65 пациентов с диагнозом «медуллобластома», верифицированным или подтвержденным в патологоанатомическом отделении Национального медицинского исследовательского центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России в период с 2013 по 2016 год.

Медиана возраста пациентов составила 6,5 года (от 1,5 мес. до 16 лет); 16 пациентов были младше 3 лет. Соотношение мальчиков и девочек – 2,25:1. Медиана наблюдения за пациентами – 25 мес. В отделениях НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева терапию провели 26 пациентам, остальные дети получали терапию в других клиниках. Всем пациентам проводили терапию по различным версиям протокола HIT (в том числе по версии HIT MED 2014). У 20 пациентов к моменту начала терапии наблюдалось метастатическое распространение опухоли (M+ стадия); у 17 пациентов определялась остаточная опухоль после проведенного оперативного лечения (R+ стадия).

Материалом для молекулярно-генетического исследования была ткань, полученная в результате резекции опухоли, фиксированная в формалине и залитая в парафиновый блок. Из фрагмента образца, содержащего не менее 70% ткани опухоли, готовили пять срезов толщиной 10 мкм. После предварительной депарафинизации растворителем *Bio Clear* (*Bio-Optica*, Италия) общую РНК выделяли набором *Recover All Total Nucleic Acid Isolation Kit*

for FFPE (*Thermo Fisher Scientific*, США) согласно инструкции производителя. Выделенную РНК подвергали количественной и качественной оценке: измерение концентрации методом спектрофотометрии (*Nanodrop 2000*, *Thermo Fisher Scientific*, США) и исследование уровня деградации с помощью электрофореза флуоресцентно меченных фрагментов РНК на микроструйных чипах (*Bioanalyzer 2100*, *Agilent*, Германия) [13]. РНК в количестве 300 нг использовали для исследования экспрессии генов методом *NanoString* по стандартной методике, включая гибридизацию РНК и зондов (16 ч), автоматизированную очистку продуктов гибридизации и подготовку картриджа (иммобилизацию комплексов РНК-зонды) и сканирование на флуоресцентном анализаторе *nCounter* (*NanoString*, США). Панель исследуемых генов была адаптирована по публикации *P.A. Northcott et al.*, 2012 и включала 23 анализируемых и 3 референсных гена [8]. Обработка и анализ результатов сканирования осуществлялась с помощью программного обеспечения *nSolver 3.0* (*NanoString*, США).

С целью валидации диагностических возможностей метода *NanoString* была сформирована тестовая когорта – 7 пациентов (WNT – 1, SHH – 4, подгруппа 3 – 2 пациента); принадлежность медуллобластомы к молекулярно-генетической подгруппе определяли на основании исследования профиля метилирования ДНК у этих пациентов, а также ряда второстепенных маркеров – наличия мутации в экзоне 3 гена *CTNNB1* и сочетания десмопластического гистологического строения опухоли с ранним возрастом пациента.

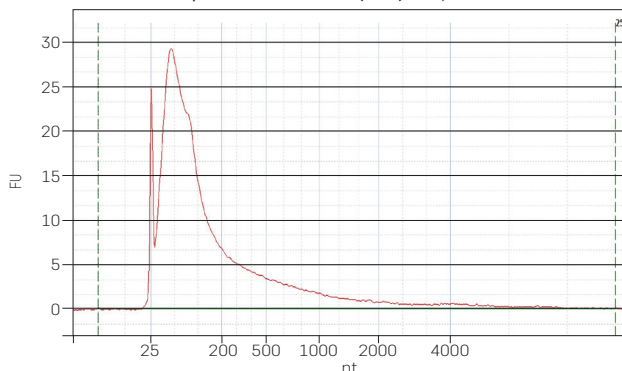
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Используя в качестве анализируемого материала ткань опухоли, фиксированную в формалине и залитую в парафиновый блок, мы ожидали получить небольшое количество фрагментированной РНК. Оказалось, что количество выделенной РНК имело существенные различия в разных образцах и находилось в диапазоне от 675,0 нг до 23,3 мкг (медиана – 3,7 мкг). В основном РНК была представлена короткоцепочечными фрагментами длиной 100 нуклеотидов, рибосомальные пики не визуализировались ни в одном случае, а показатель целостности РНК (RIN) находился в диапазоне от 1,2 до 2,6 (медиана – 2,2). Типичная электрофореграмма образца РНК, выделенной из ткани опухоли, фиксированной в формалине и залитой в парафиновый блок, представлена на рисунке 1.

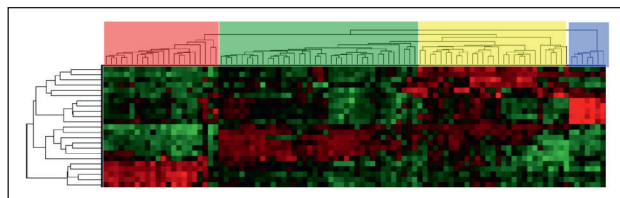
Распределение образцов медуллобластомы на молекулярно-генетические подгруппы в тестовой когорте полностью соответствовало результатам проведенной ранее классификации, что подтвердило диагностические возможности метода *NanoString*.

Рисунок 1

Электрофореграмма образца РНК, выделенной из ткани опухоли, фиксированной в формалине и залитой в парафиновый блок. Показатель целостности РНК (RIN) – 2,5

**Рисунок 2**

Иерархическая агломеративная кластеризация нормализованных величин экспрессии генов позволяет разделить образцы медуллобластомы на молекулярно-генетические подгруппы: WNT (синий кластер), SHH (красный кластер), подгруппу 3 (желтый кластер) и подгруппу 4 (зеленый кластер)



Величины нормализованной экспрессии генов были подвергнуты агломеративной иерархической кластеризации, которая позволила выделить четыре неперекрывающиеся группы пациентов, в которых экспрессия генов, специфичных для соответствующей молекулярно-генетической подгруппы медуллобластомы, была наивысшей (рис. 2). Таким образом, анализ экспрессии 23 генов с помощью технологии *NanoString* позволил однозначно классифицировать образцы медуллобластом на молекулярно-генетические подгруппы – WNT, SHH, 3 и 4.

В результате проведенного исследования образцы ткани опухолей пациентов с медуллобластомой были классифицированы следующим образом: подгруппа WNT – 8; подгруппа SHH – 15; подгруппа 3 – 16 и подгруппа 4 – 26 больных.

Медуллобластома подгруппы WNT была определена у 8 пациентов, их средний возраст на момент постановки диагноза составил 10 лет. У одного пациента в дебюте заболевания определялось метастатическое поражение ЦНС, еще у одного – остаточная опухоль после проведенной операции. У большинства пациентов ($n = 7$) был выявлен классический гистологический вариант опухоли, у одного – десмопластический. Семь пациентов данной группы живы; один ребенок погиб (локальный рецидив опухоли).

Опухоль, относящаяся к подгруппе SHH, была обнаружена у 15 пациентов: их средний возраст на момент постановки диагноза – 3 года. Основной гистологический вариант медуллобластомы в данной

подгруппе – нодулярно-десмопластический ($n = 12$), однако у двух пациентов верифицировали классическую медуллобластому, а у одного – анапластическую.

Единственным событием в группе детей до 3 лет была смерть, связанная с токсическими осложнениями терапии. У детей старше 3 лет преобладали неблагоприятные события, связанные с заболеванием (прогрессия и рецидив опухоли).

Опухоли молекулярно-генетической подгруппы 3 были выявлены у 16 пациентов исследуемой когорты; их средний возраст на момент постановки диагноза – 4,9 года. Более чем у половины пациентов ($n = 9$) в дебюте заболевания отмечено метастатическое распространение опухоли, а также высокий процент неблагоприятных гистологических вариантов (анапластический вариант и классическая медуллобластома с очагами анаплазии). У двух пациентов выявлена десмопластическая медуллобластома. У всех детей младшего возраста (менее 4 лет) наблюдалось рефрактерное течение болезни.

Наиболее многочисленной ($n = 26$) в данном исследовании оказалась подгруппа 4, средний возраст пациентов в которой составил 7 лет, а основным гистологическим вариантом был классический тип медуллобластомы ($n = 20$), десмопластический вариант определен в 6 случаях. Неблагоприятные события были зарегистрированы только у пациентов с метастатическим распространением опухоли (M+ стадия).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение молекулярно-генетических подгрупп медуллобластом осуществляется с помощью двух основных групп методов: исследование профиля экспрессии генов или метилирование ДНК на уровне генома. Особенности логистики образцов и сложности стандартизации преаналитического этапа в условиях мультицентрового взаимодействия делают использование свежесамороженной ткани опухоли, предусмотренное этими методиками, чрезвычайно затруднительным, что практически исключает применение биологических чипов высокой плотности для анализа профиля экспрессии генов, требующих РНК высокого качества. В связи с этим ткань опухоли, фиксированная в формалине и залитая в парафиновый блок, является оптимальным исследуемым материалом, позволяющим одновременно проводить и морфологические, и молекулярно-генетические исследования. В то же время ДНК, выделенная из фиксированной ткани, пригодна для анализа профиля метилирования ДНК, позволяющего достоверно разделить образцы медуллобластомы на подгруппы. Среди недостатков этого метода – трудоемкость и значительная продолжительность обработки данных, а также высокая стоимость исследования.

Анализ экспрессии генов с помощью технологии *NanoString* позволяет с относительно небольшими трудозатратами использовать высокофрагментированную РНК, выделенную из фиксированной ткани, для получения достоверных результатов. Программное обеспечение дает возможность врачу, не имеющему подготовки в сфере биоинформатики, быстро проводить анализ. Все вышеперечисленное делает данную платформу оптимальной для использования в клинике, что подтверждено при создании стандартизированной системы классификации образцов рака молочной железы с использованием панели PAM50 [14].

В настоящем исследовании были подтверждены диагностические возможности технологии *NanoString* для классификации пациентов с медуллобластомой на молекулярно-генетические подгруппы. Метод продемонстрировал надежное и клинически значимое распределение пациентов.

ВЫВОДЫ

Технология *NanoString* позволяет надежно дифференцировать образцы медуллобластомы различных молекулярно-генетических подгрупп. Метод применим для анализа фрагментированной РНК,

выделенной из фиксированной ткани, и отличается высокой скоростью получения и анализа данных. Разделение пациентов с медуллобластомой на молекулярно-генетические подгруппы клинически значимо, дает возможность прогнозировать вероятность рецидива или прогрессии заболевания. Прогностическая значимость данных маркеров нуждается в валидации в рамках проспективных клинических исследований, но, несомненно, данная классификация станет основой для стратификации пациентов на группы риска в будущих терапевтических протоколах.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Благотворительный фонд «Подари жизнь».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

А.Е. Друй <https://orcid.org/0000-0003-1308-8622>

Л.И. Папуша <https://orcid.org/0000-0001-7750-5216>

Л.А. Ясько <https://orcid.org/0000-0003-3007-3772>

Ю.В. Ольшанская <https://orcid.org/0000-0002-2352-7716>

А.А. Масчан <https://orcid.org/0000-0002-0016-6698>

Г.А. Новичкова <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>

Литература

- Coluccia D., Figueredo C., Isik S., Smith C., Rutka J.T. Medulloblastoma: Tumor Biology and Relevance to Treatment and Prognosis Paradigm. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2016; 16 (5): 43–54.
- Taylor M.D., Northcott P.A., Korshunov A., Remke M., Cho Y.J., Clifford S.C., et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta Neuropathol* 2012; 123 (4): 465–72.
- Louis D.N., Perry A., Reifenberger G., von Deimling A., Figarella-Branger D., Cavenee W.K., et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol* 2016; 131 (6): 803–20.
- Northcott P.A., Korshunov A., Pfister S.M., Taylor M.D. The clinical implications of medulloblastoma subgroups. *Nat Rev Neurol* 2012; 8 (6): 340–51.
- Pietsch T., Schmidt R., Remke M., Korshunov A., Hovestadt V., Jones D.T., et al. Prognostic significance of clinical, histopathological, and molecular characteristics of medulloblastomas in the prospective HIT2000 multicenter clinical trial cohort. *Acta Neuropathol* 2014; 128 (1): 137–49.
- Northcott P.A., Korshunov A., Witt H., Hielscher T., Eberhart C.G., Mack S., et al. Medulloblastoma comprises four distinct molecular variants. *J Clin Oncol* 2011; 29 (11): 1408–14.
- Hovestadt V., Remke M., Kool M., Pietsch T., Northcott P.A., Fischer R., et al. Robust molecular subgrouping and copy-number profiling of medulloblastoma from small amounts of archival tumour material using high-density DNA methylation arrays. *Acta Neuropathol* 2013; 125 (6): 913–16.
- Northcott P.A., Shih D.J., Remke M., Cho Y.J., Kool M., Hawkins C., et al. Rapid, reliable, and reproducible molecular sub-grouping of clinical medulloblastoma samples. *Acta Neuropathol* 2012; 123 (4): 615–26.
- Geiss G.K., Bumgarner R.E., Birditt B., Dahl T., Dowidar N., Dunaway D.L., et al. Direct multiplexed measurement of gene expression with color-coded probe pairs. *Nature Biotechnology* 2008; 26: 317–25.
- Gajjar A., Bowers D.C., Karajannis M.A., Leary S., Witt H., Gottardo N.G. Pediatric Brain Tumors: Innovative Genomic Information Is Transforming the Diagnostic and Clinical Landscape. *J Clin Oncol* 2015; 33 (27): 2986–98.
- Shih D.J., Northcott P.A., Remke M., Korshunov A., Ramaswamy V., Kool M., et al. Cytogenetic prognostication within medulloblastoma subgroups. *J Clin Oncol* 2014; 32 (9): 886–96.
- Pfister S., Remke M., Benner A., Mendrzyk F., Toedt G., Felsberg J., et al. Outcome prediction in pediatric medulloblastoma based on DNA copy-number aberrations of chromosomes 6q and 17q and the MYC and MYCN loci. *J Clin Oncol* 2009; 27 (10): 1627–36.
- Цаур Г.А., Друй А.Е., Попов А.М., Семенихина Е.Р., Ригер Т.О., Иванова А.С. и др. Возможность использования микроструйных биочипов для оценки качества и количества РНК у пациентов с онкологическими и онкогематологическими заболеваниями. *Вест. уральской мед. академич. науки*, 2011; 4: 107–11.
- Liu M.C., Pitcher B.N., Mardis E.R., Davies S.R., Friedman P.N., Snider J.E., et al. PAM50 gene signatures and breast cancer prognosis with adjuvant anthracycline- and taxane-based chemotherapy: correlative analysis of C9741 (Alliance). *NPJ Breast Cancer* 2016; 2: 15023.

Стимуляция синтеза фетального гемоглобина как альтернативный метод лечения манифестных форм β -талассемии

М.В. Красильникова, Н.А. Карамян

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

Контактная информация:

Красильникова Марина Владимировна, канд. мед. наук, гематолог, старший научный сотрудник отдела оптимизации лечения гематологических заболеваний Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий НИИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России. Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: marina.krasilnikova@fccho-moscow.ru

Основным патофизиологическим механизмом развития неэффективного эритропоэза и гемолиза при манифестных формах β -талассемии является дисбаланс синтеза α - и не- α -глобиновых цепей. Отмечается более легкое течение болезни у пациентов, сохраняющих способность синтезировать фетальный гемоглобин (HbF), тем самым уменьшается дисбаланс α -/не- α -глобиновых цепей. В связи с этим фармакологическая стимуляция синтеза HbF рассматривается как эффективное терапевтическое направление в лечении пациентов с манифестными формами β -талассемии. В данном обзоре литературы авторы подробно рассматривают применяемые схемы фармакологической стимуляции синтеза HbF, оценивают эффективность и безопасность различных препаратов и их комбинаций, а также текущее состояние и будущие перспективы реактивации HbF для лечения манифестных форм β -талассемий.

Ключевые слова: β -талассемия, эритропоэз, γ -глобиновые цепи, фетальный гемоглобин, стимуляция синтеза HbF.

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-4-90-97

Alternative therapies of manifest forms of β -thalassemia: stimulation of fetal hemoglobin synthesis

M.V. Krasilnikova, N.A. Karamjan

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

Correspondence:

Marina V. Krasilnikova, MD, hematologist, Department of Hematology, Institute of Hematology, Immunology and Cell Technology Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russian Federation. Address: Russia 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
E-mail: marina.krasilnikova@fccho-moscow.ru

An imbalance in the synthesis and ratio of α and non- α globin chains is the major pathophysiological mechanism leading to ineffective erythropoiesis and hemolysis in severe form of the β -thalassemia. Phenotype in patients who retain the capacity to synthesize fetal hemoglobin (HbF) is milder due to decreasing α - /non- α globin chain imbalance. Induction of HbF might be an effective therapeutic strategy for severe form of β -thalassemia. This literature review presents data about efficiency safeness of different medication and their combination, which stimulate synthesis of HbF. This review can provide a new insight into the current status and future perspectives in HbF reactivation as treatment option for severe form of β -thalassemia.

Key words: β -thalassemia, erythropoiesis, fetal hemoglobin, γ -globin chains, stimulation of HbF synthesis.

Основным методом лечения манифестных форм β -талассемии в течение длительного времени была и остается гемотранфузионная терапия эритроцитарной массой в сочетании с использованием препаратов, связывающих и выводящих железо [1, 2]. Данное лечение пожизненно требует регулярных трансфузий, а также контроля за количеством железа в организме пациента, с целью постоянной коррекции дозового режима хелаторной терапии [3, 4]. При адекватном традиционном паллиативном ведении пациентов с манифестными формами талассемии удается избежать развития серьезных осложнений и приблизить продолжительность жизни к нормальным показателям [5, 6], однако качество жизни пациента страдает из-за необходимости частых госпитализаций, постоянного лабораторного контроля, а сама терапия требует значительных материальных затрат [7–9]. Единственный радикальный

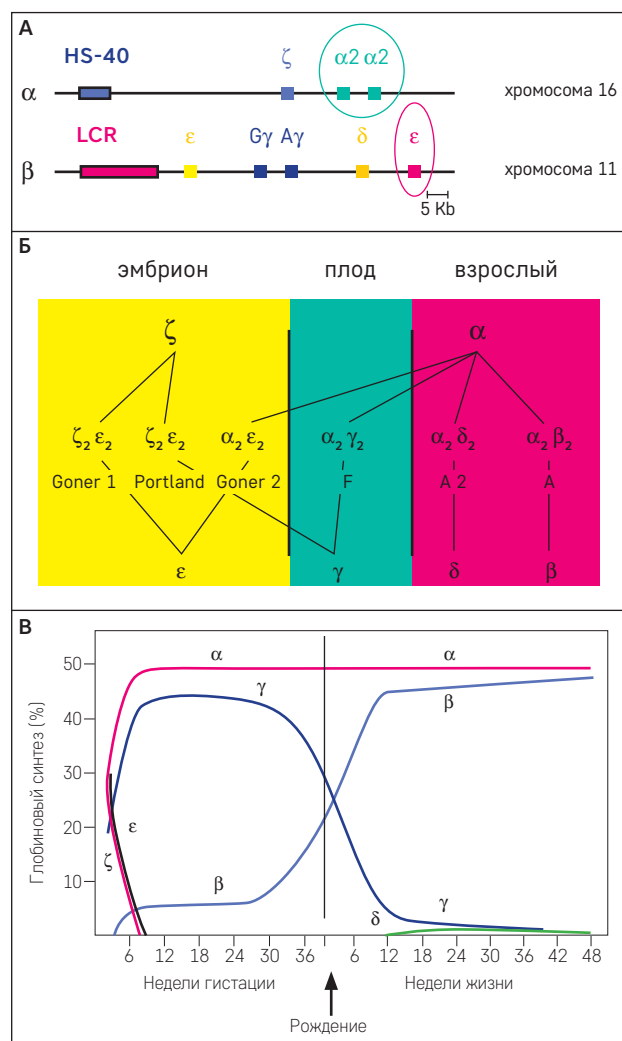
способ лечения данного заболевания – трансплантация гемопоэтических клеток [10], но, к сожалению, данный метод лечения по целому ряду причин доступен лишь для небольшого числа пациентов. Для снижения трансфузионной нагрузки и последующего улучшения состояния пациентов разрабатываются иные методы лечения талассемии. Одно из перспективных направлений терапии β -талассемии – медикаментозная коррекция дисбаланса глобиновых цепей [1, 11].

В норме глобиновые цепи, входящие в состав гемоглобина, образуют тетрамеры, содержащие по две α - и две не α -глобиновые цепи (в постнатальном периоде это – δ -, β - и γ -глобиновые цепи). В гемоглобине A (HbA) α -глобиновые цепи сочетаются с двумя β -глобиновыми цепями ($\alpha_2\beta_2$), в гемоглобине A2 (HbA2) – с двумя δ -глобиновыми цепями ($\alpha_2\delta_2$), а в фетальном гемоглобине (HbF) – с двумя β -глобино-

выми цепями ($\alpha_2\gamma_2$). По составу δ -, β - и γ -глобиновые цепи сходны и состоят из 146 аминокислотных остатков; γ - и β -глобиновые цепи различны по 39 аминокислотам [1]; δ - и β -глобиновые цепи отличаются друг от друга только по 10 аминокислотным остаткам [11]. Существуют два типа γ -глобиновых цепей, которые отличаются по одной аминокислоте в 136 позиции ($^6\gamma$ -глобиновая цепь имеет глицин, $^A\gamma$ – аланин) [11, 12]. В гаплоидном хромосомном наборе человека присутствует по одному β - и δ -глобиновому гену и, соответственно, по два γ -глобиновых гена. Гены не α -глобиновых цепей локализованы в непосредственной близости друг к другу на коротком плече 11-й хромосомы (рис. 1 А) [13, 14].

Рисунок 1

Регуляция синтеза гемоглобина: А – локализация глوبيновых генов; Б – структура нормальных гемоглобинов человека на разных этапах развития; В – эволюция синтеза глوبيновых цепей человека



Активность глوبيновых генов на разных этапах развития организма различна (рис. 1 Б, В) [14, 15]. Преобладание HbF характерно для внутриутробного периода и достигает максимума с 12-й до 32-й недели онтогенеза (90%), а к моменту рождения его содержание снижается до 20–40% с параллельным

повышением HbA, что связано с постепенным прекращением синтеза γ -цепей на синтез β -цепей [16, 17]. В последующие 6 месяцев после рождения завершается переход на взрослый тип эритропоэза с постепенной сменой содержания гемоглобинов до «взрослого». Подобные смены гемоглобинов обусловлены их функциональными особенностями: так, HbF обладает большим сродством к кислороду: он переносит на 20–30% больше кислорода, чем HbA, что способствует лучшему выполнению его функции – снабжению плода кислородом [11]. Такая последовательность смены гемоглобинов сохраняется даже при мутациях в генах, приводящих к β -талассемии [11, 14].

Нормальные эритроциты содержат равные количества α - и не α -глобиновых цепей. Нарушения синтеза цепей глобина, обусловленные различными мутациями в глوبيновых генах, приводят к развитию дисбаланса цепей в эритроците. Заболевания, в основе которых лежит дисбаланс глوبيновых цепей, относятся к количественным гемоглобинопатиям. Выделяют две наиболее значимых группы таких заболеваний: α - и β -талассемии. При α -талассемии происходит снижение синтеза α -глобиновых цепей, при β -талассемии – снижение синтез β -глобиновых цепей. Наиболее распространена β -талассемия, характерная более тяжелым течением. При развитии β -талассемии снижается синтез β -глобиновой цепи вплоть до полного его отсутствия [18, 19]. В настоящее время известны более 180 мутаций и около 20 делеций β -глобинового гена [14, 20].

Клинические проявления талассемических синдромов в значительной мере определяются степенью дисбаланса глوبيновых цепей – остаточной продукцией HbA, а также сонаследованием других аномалий синтеза глوبيновых цепей [21]. Тяжесть фенотипа талассемии обусловлена степенью снижения гемоглобина и потребностью в трансфузиях эритроцитарной массы.

В результате многочисленных наблюдений в последние десятилетия выявлено, что активация синтеза γ -глобиновых цепей, то есть количество HbF, изменяет клинический фенотип талассемии за счет уменьшения дисбаланса α - и не α -глобиновых цепей [1]. Было замечено, что реактивация синтеза HbF происходит в период восстановления после супрессии костного мозга на фоне терапии цитостатиками, такими как 5-азациитидин, цитозин-арабинозид, гидроксикарбамид, винбластин [22–27]. В дальнейшем список препаратов, стимулирующих синтез HbF, был существенно расширен. Вначале использовали монотерапию (5-азациитидин, гидроксикарбамид), затем с целью повышения числа ответивших на лечение предпринимались попытки комбинированной терапии препаратами, направленными на повышение актив-

ности γ -глобиновых генов.

Первыми препаратами, использованными у пациентов с гемоглинопатиями (серповидноклеточная болезнь – СКБ, β -талассемия), были 5-азациитидин [22, 24] и гидроксикарбамид [28]. Результаты исследования убедительно доказали эффективность 5-азациитидина. На тот момент данных о применении гидроксикарбамида было недостаточно, однако он имел существенное преимущество перед 5-азациитидином – меньшую токсичность [28].

Монотерапия

5-азациитидин был выбран для исследования благодаря его способности ингибировать метилирование ДНК [29–32]. Он включается в ДНК делящихся клеток и взаимодействует со всеми тремя известными метилтрансферазами ДНК, образуя ковалентные промежуточные продукты, которые в конечном счете ингибируют метилирование ДНК на последующих стадиях его синтеза. Эффект был продемонстрирован при исследовании ДНК из клеток костного мозга пациентов, получающих данный препарат. Особенность 5-азациитидина состоит в том, что, снижая метилирование многих генов, он не влияет на синтез γ -глобина [22, 24, 32]. Краткосрочное применение 5-азациитидина позволяет достигнуть ожидаемого эффекта, но 5-азациитидин обладает высокой цитотоксичностью, особенно для высоко пролиферирующих клеток. Эритроидные клетки костного мозга на более поздних стадиях эритропоэза наиболее восприимчивы к

его цитотоксическому действию. Эти факты привели к предположению о том, что действие 5-азациитидина нарушает кинетику эритропоэза, активируя более ранние эритроидные предшественники, содержащие HbF. Изменение кинетики эритропоэза возможно и при использовании других препаратов, таких как гидроксикарбамид, но по сравнению с ним 5-азациитидин приводит к большему увеличению синтеза γ -глобина у больных с СКБ [26]. Влияние 5-азациитидина на синтез γ -глобина временное и длится всего 2–3 недели [22–24]. Для достижения устойчивого эффекта необходимы повторные курсы или длительное лечение. Наилучшие результаты были получены у пациентов с СКБ при использовании 5-азациитидина с тетрагидроуридином – препаратом, который ингибирует инактивацию 5-азациитидина в кишечнике [1]. По результатам накопленных данных об этом препарате, учитывая наличие канцерогенного потенциала 5-азациитидина, его токсичность и принимая во внимание неплохие прогнозы при лечении пациентов с β -талассемией стандартными методами, дальнейшие его клинические исследования не проводились [29].

Гидроксикарбамид – так же, как 5-азациитидин – оказывает влияние на эритроидные клетки-предшественники (эритроидные бурсообразующие единицы – BFU-E), но при долгосрочном применении это более безопасное лекарственное средство [26]. Было показано, что монотерапия гидроксикарбамидом у больных с СКБ, промежуточной формой β -талассемии и S/ β -талассемией в большинстве случаев приводит к

Таблица 1

Результаты применения гидроксикарбамида в лечении промежуточной формы β -талассемии [28]

Источник	Характеристика пациентов	Доза гидроксикарбамида	Длительность терапии	Результаты терапии
Mancuso, et al., 2006	18 пациентов после спленэктомии, не получающих трансфузии	5–30 мг/кг/сут (средняя доза 6–14 мг/кг/сут)	1 год	У 11 из 18 человек Hb повысился более чем на 10 г/л (в среднем на 15 г/л)
Karimi, et al., 2005	163 пациента: 1-я группа – получающие регулярные трансфузии; 2-я группа – не получающие трансфузии или получающие их с большими интервалами	8–12 мг/кг/сут	6 лет	149 человек ответили на терапию: 1-я группа: 83 из 106 человек перестали получать трансфузии; 23 человека – 1–2 трансфузии; 2-я группа: 16 из 43 человек стали трансфузионно независимыми, у 27 – Hb стал приемлемым
Dixit, et al., 2005	37 пациентов	10–20 мг/кг/сут	От 4 до 36 месяцев	46% – стали трансфузионно независимыми, у 24% – Hb повысился более чем на 20 г/л, у 50% – потребность в трансфузиях снизилась
Bradai, et al. 2003	7 пациентов (2 – с промежуточной формой β -талассемии)	15–20 мг/кг/сут	От 13 до 21 месяца	У всех пациентов повысился Hb в первый месяц лечения; у 2 пациентов с промежуточной талассемией Hb повысился с 65 до 105 г/л
Gamberini, et al., 2004	6 пациентов	1 г/сут	90 дней	Снижение экстрамедуллярного кроветворения и заживление трофических масс
De Paula, et al., 2003	7 пациентов	10–20 мг/кг/сут	6 месяцев	У 3 из 7 пациентов Hb повысился на 13, 19 и 20 г/л
Gianciulli, et al., 2000	1 пациент	20 мг/кг/сут	6 месяцев	Повышение Hb с 71 до 103 г/л
Hoppe, et al., 1999	5 пациентов	3–10 мг/кг/сут	В зависимости от развития токсического эффекта	2 пациента – повышение Hb на 30 г/л 2 пациента – повышение Hb на 10–20 г/л 1 пациент – отсутствие эффекта

существенному улучшению их состояния [33]. Проведены многочисленные исследования эффективности применения гидроксикарбамида у пациентов с талассемией. В этих работах часто отмечали повышение HbF без пропорционального увеличения концентрации общего гемоглобина (Hb) [19]. Небольшой рост Hb происходит у некоторых пациентов с промежуточной формой β -талассемии, но, как правило, не выше 10–20 г/л [34, 35]. Некоторые пациенты сообщают об улучшении самочувствия даже при отсутствии роста гемоглобина [34]. Возможно, это результат подавления неэффективного эритропоэза, это объясняет назначение препарата для уменьшения очагов экстрамедуллярного кроветворения.

В более поздних исследованиях отмечен выраженный положительный эффект от приема гидроксикарбамида у пациентов с промежуточной формой β -талассемии (табл. 1) [28] вплоть до прекращения регулярных трансфузий у некоторых трансфузионно-зависимых больных [28, 36]. В другом крупном исследовании наблюдали 52 пациентов с β -талассемией, получавших лечение данным препаратом в различных дозовых режимах [37]. При анализе полученных данных была доказана умеренная эффективность терапии у пациентов с промежуточной формой и существенно меньшая у больных с большой формой β -талассемии [3]. Было высказано предположение о том, что эффективность лечения может снижаться с течением времени [38].

Несмотря на длительное применение препарата в лечении гемоглобинопатий, вопрос о безопасности долгосрочной терапии остается открытым [28]. В проведенных исследованиях риска развития лейкоэмической трансформации у пациентов с эссенциальным тромбоцитозом, получавших монотерапию гидроксикарбамидом, показан низкий риск ее разви-

тия [39]. Однако описано несколько случаев развития острого миелобластного лейкоза у пациентов с СКБ, длительно получавших гидроксикарбамид [40].

К лекарственным препаратам, стимулирующим синтез HbF, относится также **рекомбинантный эритропоэтин** (рЭПО). Показатели эндогенного сывороточного эритропоэтина при β -талассемии часто низкие и не соответствуют степени анемии [41], во многих случаях они сочетаются с повышенными запасами железа, недоступного к использованию в кроветворении [28]. Применение рЭПО у пациентов с промежуточной формой β -талассемии продемонстрировало противоречивые результаты [42, 43], некоторые из них приведены в таблице 2. Повышение Hb на 20–30 г/л имели около 40% больных, в процессе терапии у них практически не изменились HbF и эритроцитарные индексы (MCV, MCH). Наиболее часто используемая доза рЭПО – по 500 МЕ/кг 3 раза в неделю, максимальная доза – 1000 МЕ/кг 3 раза в неделю. При этом наилучший ответ на терапию был зафиксирован у пациентов с удаленной селезенкой [44]. Использование препарата в меньших дозах (50 или 150 МЕ/кг 3 раза в неделю) дает менее выраженный эффект (табл. 2); по данным некоторых авторов, минимальная эффективная доза препарата составляет 500 МЕ/кг при введении 3 раза в неделю [44]. Таким образом, рЭПО продемонстрировал лишь небольшое преимущество у пациентов с промежуточной формой β -талассемии [28], хотя имеются отдельные сообщения о больных, у которых в результате терапии рЭПО трансфузии эритроцитарной массы стали проводить существенно реже либо они были прекращены [45, 46]. Интересное исследование проведено в Республике Азербайджан: 58 взрослых пациентов с промежуточной формой β -талассемии в течение 2–4 месяцев получали рЭПО

Таблица 2

Результаты применения рЭПО у больных с промежуточной и большой формами β -талассемии [28]

Источник	Характеристика пациентов	Доза рЭПО	Длительность терапии	Результаты терапии
Caidos, et al., 2004	10 пациентов: 5 – большая форма, 5 – промежуточная форма	150 МЕ/кг $\times$ 3 раза в неделю	Не менее 12 недель	5 – снизилась трансфузионная зависимость; 3 – повысился Hb у трансфузионно независимых; легкое повышение HbF; повышение трансферриновых рецепторов (ТФР)
Olivieri, et al., 1992	3 пациента с промежуточной формой	300–1000 МЕ/кг $\times$ 3 раза в неделю	В среднем 18 недель	2 – повышение Hb
Bourantas, et al., 1997	4 пациента с трансфузионно-зависимой промежуточной формой	500 МЕ/кг $\times$ 3 раза в неделю		4 – повышение Hb (25 г/л); 1 – повышение HbF; 3 – трансфузионно независимые; 1 – снижение трансфузионной потребности
Nisli, et al., 1996	10 пациентов с промежуточной формой	500–1000 МЕ/кг $\times$ 3 раза в неделю	3 месяца	8 – повышение Hb (20 г/л), гематокрита и ретикулоцитоза
Dore, et al., 1996	8 пациентов с промежуточной формой (6 – трансфузионно независимые; 2 – получали трансфузии)	50 МЕ/кг $\times$ 3 раза в неделю	3 месяца – для трансфузионно независимых; 6 месяцев – для нуждающихся в трансфузиях	5 трансфузионно-независимых больных – повышение рТФР; 2 больных, получающих трансфузии, – повышение рТФР, ретикулоцитов, снижение трансфузионной нагрузки

в дозе 10 000 МЕ 3 раза в неделю. В период лечения у всех больных отмечали рост Hb разной степени: у 39 (67,3%) пациентов гемоглобин повысился более чем на 20 г/л; у 16 (27,5%) – на 10–20 г/л; у 3 (5,2%) – менее чем на 10 г/л [47]. Предположения о возможной гиперстимуляции экстрамедуллярного кроветворения не подтвердились [28]. При проведении длительного непрерывного лечения в течение 9 месяцев не было выявлено никаких нежелательных явлений [44]. Несмотря на положительные результаты в лечении промежуточной формы β -талассемии, применение рЭПО ограничено. К основным недостаткам данного метода лечения относятся: кратковременный эффект от терапии, высокая цена препарата и необходимость его парентерального введения [28].

Бутират или другие короткоцепочечные жирные кислоты демонстрируют увеличение продукции HbF в различных животных модельных системах, а также в организме человека [48–50]. Эти соединения, как полагают, действуют путем изменения конфигурации хроматина, возможно, из-за увеличения ацетилирования гистонов. Краткосрочное лечение внутривенными инфузиями бутирата аргинина у небольшого числа пациентов привело к повышению синтеза γ -глобиновых цепей, которое в ряде случаев было весьма значительным [51]. Одному пациенту (гомо-

зигота по Hb *Lepore*), которому невозможно было проводить гемотрансфузии из-за аллоиммунизации, препарат вводили в течение более длительного времени. В результате концентрация Hb, почти полностью состоявшего из HbF, повысилась с < 50 г/л до ~100 г/л в течение ~ 60 дней. У пациента было отмечено также заживление трофических язв на нижних конечностях [51, 52]. В следующем долгосрочном исследовании по применению данного препарата у пяти пациентов с различными тяжелыми формами β -талассемии не отмечено устойчивого гематологического ответа [45]. В другом исследовании введение бутирата аргинина пациентам с СКБ и β -талассемией проводили внутривенно в режиме пульс-терапии – это привело к положительному гематологическому ответу [53]. Пероральное применение фенилбутирата натрия и изобутирамида также, приводит к повышению числа F-клеток и синтеза γ -глобиновых цепей, но эффект не был столь постоянным или значительным, как первоначально полученный при внутривенном введении бутирата аргинина [54–56]. Концентрация Hb у пациентов с промежуточной формой β -талассемии оставалась практически без изменений [55], хотя полученные данные свидетельствовали о том, что применение изобутирамида сопровождалось снижением потребности в трансфузиях у двух из восьми пациентов [56]. В относительно краткосрочных исследованиях никаких серьезных токсических побочных эффектов не наблюдалось, хотя описано, что введение больших доз бутирата приматам приводило к значительным неврологическим токсическим эффектам [57]. Полученные результаты позволили сделать заключение о необходимости проведения дальнейших исследований для оценки долгосрочной безопасности и эффективности применения данной группы препаратов.

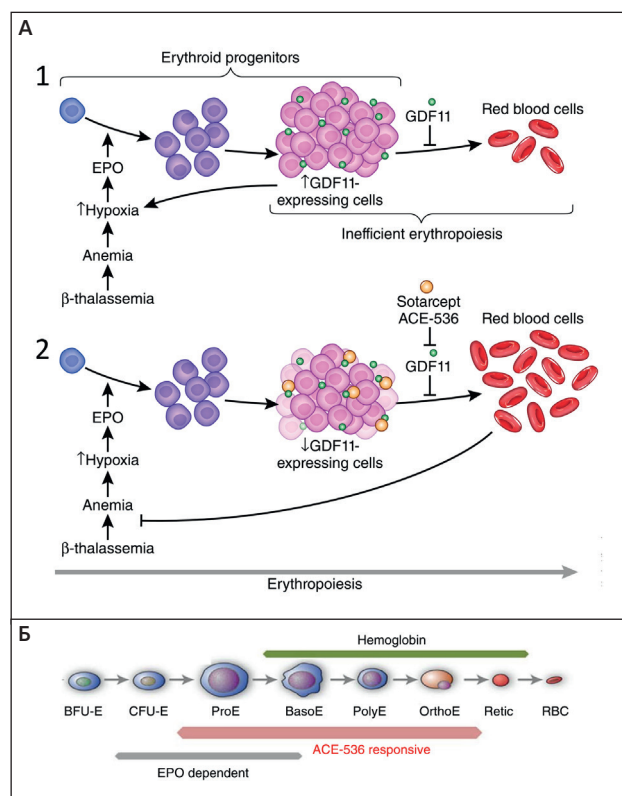
Последним направлением монотерапии талассемий стало применение ингибиторов трансформирующего ростового фактора β (*transforming growth factor β* , TGF- β), два из них – сотатерсепт (ACE-011) и луспатерсепт (ACE-536) – воздействуют на ростовой дифференцирующий фактор 11 (*growth differentiation factor 11*, GDF11), молекулу, регулирующую эритропоэз [58, 59]. Механизм их действия схематично представлен на рисунке 2. В настоящее время проводится II фаза открытого мультицентрового клинического исследования по определению оптимальной дозы сотатерсепта, его безопасности и переносимости взрослыми пациентами с β -талассемией [60].

Комбинированная терапия

Для усиления эффекта стимуляции синтеза Hb применяют различные комбинации препаратов. Добавление гидроксикарбамида к терапии с фенилбу-

Рисунок 2

Схематичное представление механизма действия сотатерсепта при β -талассемии: **А** (1) – схематичное представление неэффективного эритропоэза; **А** (2) – механизм действия сотатерсепта [58]; **Б** – этапы созревания эритроидных клеток (розовым отмечены эритроидные предшественники, отвечающие на действие сотатерсепта) [59]



тиратом натрия привело к дальнейшему повышению концентрации Hb у гомозиготных пациентов с Hb *Lepore* [61]. При этом применение данного сочетания препаратов у пациентов с промежуточной формой β -талассемии не было более эффективным, чем при монотерапии гидроксикарбамидом [46].

Еще одна перспективная комбинация – сочетание применения рЭПО и гидроксикарбамида. Несмотря на применение различных доз препаратов, режимов приема и длительности терапии, отмечен аддитивный эффект данной терапии у некоторых пациентов [44]. Таким образом, несмотря на высокую стоимость лечения, в некоторых случаях показано проведение данной терапии с целью улучшения качества жизни [44]. При изучении нежелательных явлений побочные токсические эффекты данных препаратов не выявлены [62].

Перспективным сочетанием препаратов является комбинация метформина с гидроксикарбамидом. Ее основные преимущества по сравнению с сочетанием рЭПО + гидроксикарбамид – гораздо более низкая стоимость лечения и отсутствие необходимости парентерального введения препаратов, что в свою очередь должно обеспечивать большую приверженность пациентов к терапии. Метформин (диметилбигуанид) – препарат, применяемый при лечении сахарного диабета 2-го типа, в том числе гестационного сахарного диабета у беременных женщин и некоторых состояний у детей [63, 64]. Оказалось, что данный препарат оказывает воздействие на экспрессию белка *forkhead box protein O3* (FOXO3), усиливая ее. Как было доказано ранее, FOXO3 участвует в формировании эритроцитов, а также в самообновлении и дифференцировке стволовых клеток [65], облегчает выживание эритроидных предшественников, участвуя в созревании и повышении их устойчивости к окислительному стрессу. Были проведены исследования на клеточных культурах, которые показали, что сочетание препаратов гидроксикарбамид + метформин оказывает дополнительные эффекты на

индукцию HbF, предполагается, что комбинированная терапия у пациентов может быть эффективнее, чем стандартная монотерапия гидроксикарбамидом. Эффективность данной терапии можно усилить за счет отсутствия миелосупрессии [66]. На основании полученных результатов стартовало клиническое исследование метформина (1500–2500 мг/день) в качестве моно- и комбинированной терапии в сочетании с гидроксикарбамидом. Для исследования были отобраны пациенты с СКБ и трансфузионно независимыми формами β -талассемии в возрасте 16–40 лет. Первичный анализ полученных данных будет проведен в 2019 году [67].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом результаты применения фармакологической стимуляции синтеза HbF у пациентов трансфузионно-зависимой β -талассемией разочаровывают, но есть надежда, что применение комбинаций препаратов может потенцировать их эффект. В настоящее время медикаментозная стимуляция синтеза HbF – основная для пациентов, которым не могут проводить трансфузии эритроцитарной массы из-за развития аутоиммунных осложнений. Этот подход можно использовать также у пациентов с промежуточной формой β -талассемии, которым требуются частые переливания. Необходимо продолжать клинические исследования для поиска оптимальных препаратов или комбинаций препаратов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

М.В. Красильникова <http://orcid.org/0000-0002-0929-4792>

Н.А. Карамян <http://orcid.org/0000-0002-9865-527X>

Литература

- Nathan D., Oski F. Hematology of Infancy and Childhood, 3th ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 1987; Vol. 1; 847 p.
- Cazzola M., Borgna-Pignatti C., Locatelli F., Ponchio L., Beguin Y., De Stefano P. A moderate transfusion regimen may reduce iron loading in beta-thalassemia major without producing excessive expansion of erythropoiesis. *Transfusion* 1997; 37 (2): 135–40.
- Cappellini M.D., Cohen A., Eleftheriou A., Piga A., Porter J., Taher A. Guidelines for the Management of Transfusion Dependent Thalassemia, 2nd Edition TIF, 2007, 203 p.
- Cappellini M.D., Bejaoui M., Agaoglu L., Canatan D., et al. Iron chelation with deferasirox in adult and pediatric patients with thalassemia major: efficacy and safety during 5 years' follow-up. *Blood* 2011; 118 (4): 884–93.
- Rachmilewitz EA, Giardina PJ. How I treat thalassemia. *Blood* 2011; 118 (13): 3479–88.
- Sharef S.W., Al-Hajri M., Beshlawi I., Al-Shahrabally A., Elshinawy M., Zachariah M., et al. Optimizing Hydroxyurea use in children with sickle cell disease: low dose regimen is effective. *Eur J Haematol* 2013; 90 (6): 519–24.
- Karnon J., Zeuner D., Brown J., Ades A.E., Wonke B., Modell B. Lifetime treatment costs of beta-thalassemia major. *Clin Lab Haematol* 1999; 21(6): 377–85.
- Ginsberg G., Tulchinsky T., Filon D., Goldfarb A., Abramov L., Rachmilewitz E.A.

- Cost-benefit analysis of a national thalassaemia prevention programme in Israel. *J Med Screen* 1998; 5 (3): 120–6.
9. de Silva S., Fisher C.A., Premawardhena A., Lamabadusuriya S.P., Peto T.E., Perera G., et al. Thalassaemia in Sri Lanka: implications for the future health burden of Asian populations. Sri Lanka Thalassaemia Study Group *Lancet* 2000; 355 (9206): 786–91.
 10. Angelucci E., Matthes-Martin S., Baronciani D., Bernardin F., Bonanomi S., Cappellini M.D., et al. Hematopoietic Stem Cell Transplantation In Thalassemia Major And Sickle Cell Disease: Indications And Management Recommendations From An International Expert Panel. *Haematologica* 2014; 99: 811–20.
 11. Наследственные анемии и гемоглобинопатии (Под ред. Ю.Н. Токарева, С.П. Холлан, Х.Ф. Коррал-Альмонте). – М.: Медицина, 1983, 336 с.
 12. Schroeder W.A., Huisman T.H., Shelton J.R., Shelton J.B., Kleihauer E.F., Dozy A., Robberson B. Evidence of multiple structural genes for γ -chain of human fetal hemoglobin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1968; 60: 537.
 13. Deisseroth A., Nienhuis A., Lawrence J. Chromosomal localization of the human beta globin gene to human chromosome 11 in somatic cell hybrids. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75: 1456.
 14. Важнейшие гемоглобинопатии и талассемические синдромы (Под ред. А.Г. Румянцев, Ю.Н. Токарева, Н.С. Сметаниной). – М.: Практическая медицина, 2015, 448 с.
 15. Лимборская С.А. Молекулярная природа генетической гетерогенности талассемии / В кн.: Теоретические проблемы медицинской генетики. – М., 1979, с. 4–16.
 16. Stamatoyannopoulos G., Nienhuis A.W., Stamatoyannopoulos G., Papayannopoulou T., Stamatoyannopoulos G., Nienhuis A.W., editors. Fetal hemoglobin and the erythroid stem cell differentiation process. *Cellular and Molecular Regulation of Hemoglobin Switching*. Grune and Stratton; New York, NY. 1979; p. 323–50.
 17. Wood W.G. Haemoglobin synthesis during human fetal development. *Br Med Bull* 1976; 32: 282–7.
 18. Шиффман Ф.Д. Патопфизиология крови. – М.: БИНОМ, 2009, 448 с.
 19. Hematology: Basic principles and practice. Edited by: R. Hoffman, E.J. Benz, S.J. Shattil, B. Furie, H.J. Cohen, L.E. Silberstein, P. McGlave 4th ed. 2005, 2821 p.
 20. Musallam K.M., Taher A.T., Cappellini M.D., Sankaran V.G. Clinical experience with fetal hemoglobin induction therapy in patients with β -thalassemia. *Blood* 2013; 121: 2199–212.
 21. Rund D., Rachmilewitz E. β -thalassemia. *N Engl J Med*, 2005; 353: 1135–1146.
 22. Ley T.J., DeSimone J., Anagnou N.P., Keller G.H., Humphries R.K., Turner P.H., et al. 5-azacytidine selectively increases gamma-globin synthesis in a patient with beta+ thalassemia. *N Engl J Med* 1982; 307: 1469.
 23. Charache S., Dover G., Smith K, Talbot C.C. Jr., Moyer M., Boyer S. Treatment of sickle cell anemia with 5-azacytidine results in increased fetal hemoglobin production and is associated with nonrandom hypomethylation of DNA around the gamma-delta-beta-globin gene complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 4842.
 24. Ley T.J., DeSimone J., Noguchi C.T., Turner P.H., Schechter A.N., Heller P., Nienhuis A.W. 5-azacytidine increases gamma-globin synthesis and reduces the proportion of dense cells in patients with sickle cell anemia. *Blood* 1983; 62: 370.
 25. Nienhuis A.W., Ley T.J., Humphries R.K., Young N.S., Dover G. Pharmacological manipulation of fetal hemoglobin synthesis in patients with severe beta thalassemia. *Ann NY Acad Sci* 1985; 445: 198.
 26. Dover G.J., Humphries R.K. Pharmacological manipulation of fetal hemoglobin synthesis. In: *Experimental Approaches for the Study of Hemoglobin Switching*. Stamatoyannopoulos G., and Nienhuis, A.W. (eds.), New York, Alan R. Liss, Inc., 1985, pp. 447–54.
 27. Letvin N.L., Linch D.C., Beardsley G.P., McIntyre K.W., Miller B.A., Nathan D.G. Influence of cell cycle phase-specific agents on Simian fetal hemoglobin synthesis. *J Clin Invest*, 1985; 75: 1999.
 28. Borgna-Pignatti C. Modern treatment of thalassaemia intermedia. *Br J Haematol* 2007; 138: 291–304.
 29. Riggs A.D. 5-Methylcytosine, gene regulation, and cancer. *Adv Can Res* 1983; 40: 1.
 30. Santi D.V., Garrett C.E., Barr P.J. On the mechanism of inhibition of DNA-cytosine methyltransferases by cytosine analogs. *Cell* 1983; 33: 9.
 31. Cooper D.N. Eukaryotic DNA methylation. *Hum Genet*, 1983; 64: 315.
 32. Lowrey C.H., Nienhuis A.W. Treatment with azacytidine of patients with end-stage β -thalassemia. *N Engl J Med* 1993; 334: 845–8.
 33. Сметанина Н.С., Румянцев Ю.Б., Кутлар А., Токарев Ю.Н. Гидроксимочевина в лечении серповидно-клеточной анемии. *Гематология и трансфузиология*, 2003; 2 (1): 22–6.
 34. Loukopoulos D., Voskaridou E., Stamoulakatos A., Papassotiriou Y., Kalotychou V., Loutradi A., et al. Hydroxyurea therapy in thalassemia. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 850: 120–8.
 35. Hoppe C., Vichinsky E., Lewis B., Foote D., Styles L. Hydroxyurea and sodium phenylbutyrate therapy in thalassemia intermedia. *Am J Hematol* 1999; 62: 221–7.
 36. De Paula E.V., Lima C.S., Arruda V.R., Alberto F.L., Saad S.T., Costa F.F. Long-term hydroxyurea therapy in beta-thalassaemia patients. *Eur J Haematol* 2003; 70: 151–5.
 37. Steinberg M.H., Rodgers G.P. Pharmacologic modulation of fetal hemoglobin. *Medicine* 2001; 80: 328–44.
 38. Mancuso A., Maggio A., Renda D., Di Marzo R., Rigano P. Treatment with hydroxycarbamid for intermedia thalassaemia: decrease of efficacy in some patients during long-term follow up. *Bri J Haematol* 2006; 133: 105–6.
 39. Chim C.S., Kwong Y.L., Lie A.K., Ma S.K., Chan C.C., Wong L.G., et al. Long-term outcome of 231 patients with essential thrombocythemia: prognostic factors for thrombosis, bleeding, myelofibrosis, and leukemia. *Arch Inter Med* 2005; 165: 2651–8.
 40. Wilson S. Acute leukemia in a patient with sickle cell anemia treated with

- hydroxyurea. *Ann Inter Med* 2000; 133: 925–6.
41. Amer J., Dana M., Fibach E. The antioxidant effect of erythropoietin on thalassemic blood cells. *Anemia* 2010; Art. ID 978710, p. 11.
 42. Oliveri N.F., Freedman M.H., Perrine S.P., Dover G.J., Sheridan B., Essentine D.L., Nagel R.L. Trial of recombinant human erythropoietin: Three patient with thalassemia intermedia. *Blood* 1992; 80: 3258–60.
 43. Bourantas K., Economou G., Georgiou J. Administration of high doses of recombinant human erythropoietin to patients with beta-thalassemia intermedia: A preliminary trial. *Eur J Haematol* 1997; 58: 22–5.
 44. Rachmilewitz E.A., Aker M. The role of recombinant human erythropoietin in the treatment of thalassemia. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 850: 134–8.
 45. Nisli G., Kavakli K., Aydinok Y., Aydinok Y. Recombinant erythropoietin trial in children with transfusion-dependent homozygous beta-thalassemia. *Acta Haematol* 1997; 98: 199–203.
 46. Makis A.C., Chaliasos N., Hatzimichael E.C., Bourantas K.L. Recombinant human erythropoietin therapy in a transfusion-dependent beta-thalassemia major patient. *Ann Hematol* 2001; 80: 492–5.
 47. Rachmilewitz E.A., Aker M. The role of recombinant human erythropoietin in the treatment of thalassemia. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 850: 134–8.
 48. Гасанова А.Б., Алимирзоева З.Х., Мамедова Т.А., Асадов Ч.Д. Применение рекомбинантного эритропоэтина в лечении промежуточной формы β-талассемии. *Гематология и трансфузиология*, 2012; т. 57 (прилож.), с. 41.
 49. Perrine S.P., Miller B.A., Faller D.V. Sodium butyrate enhances fetal globin expression in erythroid progenitors of patients with HbSS and Thalassemia. *Blood* 1989; 74: 454–9.
 50. Perrine S.P., Greene M.F., Faller D.V. Delay in fetal globin switch in infants of diabetic mothers. *N Engl J Med* 1985; 312: 334–8.
 51. Perrine S.P., Rudolph A., Faller D.V., Faller D.V. Butyrate infusions in the ovine fetus delay the biologic clock for globin gene switching. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 8540–2.
 52. Perrine S.P., Ginder G.D., Faller D.V., Dover G.H., Ikuta T., Witkowska H.E., et al. A short-term trial of butyrate to stimulate fetal-globin gene expression in the β-globin disorders. *N Engl J Med* 1993; 328: 81–6.
 53. Sher G.D., Oliveri N.F. Rapid healing of chronic leg ulcers during arginine butyrate therapy in patients with sickle cell disease and thalassemia. *Blood* 1994; 84: 2378–80.
 54. Atweh G.F., Sutton M., Nassif I., Boosalis V., Dover G.J., Wallenstein S., et al. Sustained induction of fetal hemoglobin by pulse butyrate therapy in sickle cell disease. *Blood* 1999; 93: 1790–7.
 55. Dover G.J., Brusilow S., Samid D. Increased fetal hemoglobin in patients receiving sodium 4-phenylbutyrate. *N Engl Med* 1992; 327: 43–9.
 56. Chiu R.W., Lau T.K., Leung T.N., Chow K.C., Chui D.H., Lo Y.M. Prenatal exclusion of beta thalassemia major by examination of maternal plasma. *Lancet* 2002; 360: 998–1000.
 57. Saiki R.K., Walsh P.S., Levenson C.H., Erlich H. Genetic analysis of amplified DNA with immobilized sequence-specific oligonucleotide probes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 6230–4.
 58. Kawasaki E., Saiki R., Erlich H. Genetic analysis using polymerase chain reaction-amplified DNA and immobilized oligonucleotide probes: Reverse dot blot typing. *Methods Enzymol*, 1993; 218: 369–81.
 59. Paulson R.F. Targeting a new regulator of erythropoiesis to alleviate anemia. *Nat Med* 2014; 20 (4): 334–5.
 60. Suragani R.N., Cadena S.M., Cawley S.M., Sako D., Mitchell D., Li R., et al. Transforming growth factor-β superfamily ligand trap ACE-536 corrects anemia by promoting late-stage erythropoiesis. *Nat Med* 2014; 20 (4): 408–14.
 61. Cappellini M.D., Porter J., Origa R., Forni G.L., Laadem A., Galacteros F., et al. A Phase 2a, Open-Label, Dose-Finding Study To Determine The Safety and Tolerability Of Sotatercept (ACE-011) In Adults With Beta (β)-Thalassemia: Interim Results. *Blood* 2013; 122: 3448.
 62. Cao A., Galanello R. Effect of consanguinity on screening for thalassemia. *N Engl J Med* 2002; 347: 1200–2.
 63. El-Hazmi M.A., al-Momen A., Kandawamy S., Huraib S., Harakati M., al-Mohareb F., Warsy A.S. On the use of hydroxyurea/erythropoietin combination therapy for sickle cell disease. *Acta Haematol* 1995; 94 (3): 128–34.
 64. Сазонова А.И., Есаян П.М., Колгачева О.И., Гарданова Ж.Р. Эффективность и безопасность применения препаратов метформина при беременности для лечения гестационного сахарного диабета: современный взгляд на проблему. *Сахарный диабет* 2016; 19 (2): 164–70.
 65. Хижняк О. Метформин в профилактике метаболического синдрома у детей и взрослых /<http://www.mif-ua.com/archive/article/2890>
 66. <http://moikompas.ru/compas/foxo>
 67. Zhang Y., Weiss M., Sumazin P., Sheehan V.A. Metformin Induces FOXO3-Dependent Fetal Hemoglobin Production in Primary Erythroid Cells. *Blood* 2016; 128: 322.
 68. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02981329>

Остеопения и остеопороз после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, особенности нарушений костного минерального обмена у детей

Контактная информация:

Скворцова Юлия Валериевна, врач-гематолог, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, заместитель заведующего отделением ТГСК № 2 НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.

Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1
Тел.: 8 (915) 069-3743
E-mail: yuscvo@mail.ru

Ю.В. Скворцова, Д.Н. Балашов, А.А. Масчан

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

Среди множества отдаленных эффектов аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) нередкой проблемой является патология костного минерального обмена. Остеопения и остеопороз – многофакторные, прогрессирующие и длительные нарушения, которые приводят к переломам костей и инвалидизации, существенно снижают качество жизни пациентов. Своевременная диагностика остеопении и остеопороза, правильный и индивидуализированный подход к терапии позволяют улучшить прогноз заболевания. В статье описаны патогенез, диагностика и современные подходы к лечению патологии костного обмена после алло-ТГСК. Отдельно освещены особенности данных нарушений в детской популяции.

Ключевые слова: аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, поздние осложнения, остеопения, остеопороз.

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-4-98-106

Osteopenia and osteoporosis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, features of bone mineral turnover pathology in children

Y.V. Skvortsova, D.N. Balashov, A.A. Maschan

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

Among the numerous late effects of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) the bone turnover pathology remains one of the frequent. Osteopenia and osteoporosis are multifactorial, progressive and long-term disturbances. They can lead to bone fractures and disability and significantly reduce the quality of life. In-time diagnostic of osteopenia and osteoporosis, appropriate and individualized therapeutic approach allow to improve the prognosis of patients. This article describes pathogenesis, diagnostic and recent treatment options of bone mineral pathology after allogeneic HSCT. Peculiarities of these complications in children population are reviewed separately.

Key words: allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, late effects, osteopenia, osteoporosis.

Correspondence:

Dr. Y. Skvortsova, MD, hematologist of HSCT Department #2, Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russian Federation. Address: Russia 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
Tel.: +7 (915) 069-3743
E-mail: yuscvo@mail.ru

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) позволяет вылечить множество злокачественных и незлокачественных заболеваний. Однако параллельно с ростом количества выживших пациентов в последние годы увеличивается и число поздних осложнений ТГСК, требующих особых знаний для своевременных диагностики и лечения. Среди множества отдаленных эффектов алло-ТГСК часто наблюдается патология костного обмена с преобладанием остеопении и остеопороза с высоким риском переломов [1]. Ассоциированная с трансплантацией потеря костной плотности

– мультифакторное, быстро прогрессирующее и длительно протекающее нарушение [2]. Снижение костной плотности диагностируется у 24–50% пациентов между 2 и 12 месяцами после алло-ТГСК [3–5].

Остеопороз – наиболее значимое обменное заболевание костей. Он характеризуется потерей костной массы и нарушением микроархитектоники костной ткани с последующими увеличением хрупкости костей и подверженностью переломам (Консенсус Конференции по развитию, 1993) [6]. Рабочая группа Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) рекомендует оценивать степень остеопороза на

основании измерения костной минеральной плотности (КМП) при выполнении двухэнергетической рентгеновской остеоденситометрии (ДРО). В качестве характеристик используется такой показатель (*score*), как граммы минеральной плотности на 1 см², стандартизованный по отношению к общей популяции. КМП различных участков скелета сравнивают с усредненной КМП для популяции, сходной по возрасту/полу/этнической принадлежности (*Z-score*), или со средней КМП здорового взрослого человека того же пола (*T-score*). Выраженность этих показателей меняется в зависимости от возраста и наступления менопаузы. Для мужчин и женщин старше 50 лет лучше использовать показатель *T-score*; для детей, подростков и взрослых моложе 50 лет предпочтительнее *Z-score* [7]. Оценивают стандартные отклонения: нормой для здорового взрослого человека считают *T-score* $\geq -1,0$; снижением костной плотности, или остеопенией, – *T-score* от $-1,0$ до $-2,5$, а остеопорозом – значение *T*-показателя менее 2,5 стандартных отклонений (SD).

У детей нормой принято считать *Z-score* $> 2,0$, а снижением костной плотности – *Z-score* $\leq -2,0$. Термин «остеопороз» применим к детям только при снижении КМП $\leq -2,0$ и наличии истории переломов костей ног, компрессионных переломов позвоночника, двух и более переломов трубчатых костей рук [8]. В среднем риск переломов возрастает в два раза на каждую единицу снижения SD. Принятыми точками измерения КМП считаются шейка бедра, бедренная кость, позвоночник (оценивают минимум два позвонка в задне-передней проекции). Для диагностики остеопороза используют наименьший показатель. Лучшая локализация для предсказания риска переломов – бедренная кость. Однако в детской популяции оценку лучше производить на поясничном отделе позвоночника, реже – на костях черепа и всего скелета [9].

Определение остеопении и остеопороза основано только на измерении КМП. Однако существует оценка степени риска переломов, которая рассматривает как КМП, так и другие факторы. Переломы происходят и при нормальной КМП, а наличие остеопороза можно предположить на основании хрупкости костей безотносительно КМП. ВОЗ предлагает использовать специальный «инструмент» для подсчета риска переломов – Инструмент оценки риска переломов (*Fracture Risk Assessment Tool* – FRAX), который представляет собой подсчет 10-летнего риска переломов основных костей с учетом КМП и таких факторов риска, как возраст, пол, масса тела, рост, предшествующие переломы, переломы бедра у родителей, курение, применение глюкокортикостероидов, наличие ревматоидного артрита, вторичный остеопороз, прием алкоголя [10].

Патогенез снижения костной плотности

Развитие остеопороза происходит в результате дисбаланса между формированием и разрушением костной ткани, приводящего к избыточной резорбции костей остеокластами и снижению работы остеобластов [11]. Механизмы данного нарушения многофакторны и до сих пор не вполне объяснимы. Основные причины снижения КМП представлены в таблице.

Таблица
Важные механизмы потери КМП после ТГСК [11]

Фактор риска	Механизм
Увеличение резорбции костей	
Дисфункция почек	Снижение продукции 1,25 (ОН) ₂ витамина Д ₃ , вторичный гиперпаратиреозидизм
Ингибиторы кальциневрина	Снижение функции почек, активация остеокластов
Химиотерапия	Гипогонадизм, приводящий к снижению уровня эстрогенов и тестостерона
Тотальное облучение тела/краниоспинальное облучение	Гипогонадизм
Кортикостероиды	Активация остеокластов, вторичный гиперпаратиреозидизм
Снижение костной продукции	
Мальабсорбция (РТПХ, мукозит, др.)	Снижение поступления кальция и витамина Д в организм
Дисфункция почек	Потеря магния и кальция
Химиотерапия	Прямой подавляющий эффект на образование остеобластов и их активность
Тотальное облучение тела/краниоспинальное облучение	Прямой подавляющий эффект на образование остеобластов и их активность, снижение уровня гормона роста и продукции ИФР-1
Кортикостероиды	Апоптоз остеобластов, ингибирование остеобластогенеза; снижение уровня кальция вследствие подавления всасывания в ЖКТ и увеличения экскреции с почками

Примечание: РТПХ – реакция «трансплантат против хозяина»; ИФР – инсулиноподобный фактор роста; ЖКТ – желудочно-кишечный тракт.

Перечисленные факторы вызывают нарушение регуляции различных гормонов и цитокинов, вовлеченных в процесс костного ремоделирования (например, инсулиноподобный фактор роста-1, трансформирующий фактор роста β , морфогенные костные белки), что приводит к повышению резорбции костной ткани. Важными медиаторами дифференцировки и функции остеокластов являются два цитокина из семейства фактора некроза опухоли (TNF) – лиганд рецептора активатора нуклеарного фактора-каппа В (RANK) и остеопротегерин (OPG) [12]. Лиганд RANK экспрессируется на поверхности остеобластов и

связывается с RANK на поверхности остеокластов, стимулируя их активность и дифференцировку. OPG ингибирует это взаимодействие и снижает выживаемость остеокластов. Для здоровой костной ткани необходим баланс между лигандом RANK и OPG; увеличение соотношения лиганд RANK/OPG вовлечено в процесс патогенеза остеопороза, не связанного с ТГСК. Важным фактором, модулирующим это взаимодействие, является эстроген, который ограничивает высвобождение лиганда RANK из остеобластов. Потеря эстрогена после менопаузы приводит к существенному увеличению экспрессии лиганда RANK с формированием дисбаланса соотношения лиганд RANK/OPG, стимуляции остеокластов и потере костной ткани. Механизмы посттрансплантационной потери костной ткани у детей отличаются от описанных выше, основной причиной становится снижение образования костной ткани и резорбция, приводящие к динамичному состоянию костей [13].

Остеопороз

Факторы риска. К факторам риска снижения костной плотности после алло-ТГСК относятся химиопрепараты (особенно высокодозные режимы кондиционирования), ингибиторы кальциневрина (циклоsporин А, такролимус), гипогонадизм, возраст, а также низкий массо-ростовой индекс и быстрая потеря массы тела, пролонгированная иммобилизация [14, 15]. Наиболее важный фактор риска переломов при остеопорозе – длительное использование глюкокортикостероидов в ассоциации с острой или хронической реакцией «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [16]. Риск остеопороз-ассоциированных переломов повышается при ежедневном приеме 5 мг преднизолона на протяжении не менее 3 месяцев. Риск переломов возрастает согласно увеличению дозы кортикостероидов, особенно это касается переломов позвоночника. Снижение риска происходит лишь через год после прекращения приема кортикостероидов. Вторичный сахарный диабет, хроническая почечная недостаточность, мальабсорбция (особенно при кишечной РТПХ), приводящие к дефициту витамина К, также ассоциированы со значительной потерей костной плотности после алло-ТГСК.

Считается, что причиной потери костной ткани служат быстрые и выраженные изменения уровня цитокинов после ТГСК. Высвобождение определенных цитокинов активирует остеокласты и снижает функцию предшественников остеобластов [2, 17]. Так, после алло-ТГСК отмечается усиленное высвобождение гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, IL-6, IL-7 и TNF-альфа. Кроме того, в патогенезе остеопороза играет роль нарушение баланса между RANKL и OPG. К.Н. Baek., et al. описали повышение уровней растворимого OPG и раствори-

мого RANKL в течение 3 месяцев после ТГСК [18]. Интересно, что характер снижения костной плотности после алло-ТГСК отличается от других видов остеопороза (например, от первичного остеопороза). Он более длительный и выраженный в кортикальных костях (таких, как шейка бедра), чем в трабекулярных костях (позвоночник) [19]. У пациентов с глюкокортикоид-индуцированным остеопорозом гораздо выше риск перелома позвоночника, чем костей бедра [20]. Прием кортикостероидов предрасполагает преимущественно к потере костной массы позвоночника и, соответственно, повышает риск переломов позвонков (даже в большей степени, чем дефицит эстрогенов).

Диагностика. Для постановки диагноза «остеопороз» необходимо определение костной плотности с помощью ДРО. Этот метод – точный, удобный и неинвазивный. В классическом варианте оценивают плотность шейки бедренной кости и поясничного отдела позвоночника (L1–L4). Снижение костной плотности в данных отделах – предиктор риска переломов [21].

Измерение костной плотности должно быть рекомендовано каждому пациенту на первом году после ТГСК [22]. Для больных с такими осложнениями, как острая или хроническая РТПХ, получающих кортикостероиды, необходимо проведение ДРО сразу после начала терапии кортикостероидами, так как описано быстрое снижение костной плотности на протяжении первых месяцев от начала их приема [7, 23]. Согласно рекомендациям Европейского, Международного и Американского обществ по трансплантации костного мозга, для реципиентов алло-ТГСК рекомендован обязательный превентивный скрининг костной плотности с помощью ДРО через год после ТГСК [24].

Проведение базовой ДРО рекомендуется пациентам высокого риска – с диагнозом «острый лимфобластный лейкоз» (ОЛЛ), а также получавшим высокие дозы кортикостероидов перед ТГСК. Больные с Т-показателем менее 1,5 SD перед ТГСК должны постоянно наблюдаться и начать лечение как можно раньше. В дополнение к ДРО всем пациентам перед алло-ТГСК необходимо определять базовые уровни кальция, фосфора, 25-гидроксивитамина Д.

Частота проведения скрининга с помощью ДРО точно не установлена; пациентам высокого риска рекомендуется выполнять исследование 1 раз в 1–2 года. Если заподозрена эндокринная причина остеопороза – первичный гиперпаратиреоз, гипертиреоз, гипогонадизм, пациента должен проконсультировать эндокринолог.

Профилактика. Рекомендуется следить за адекватным поступлением кальция в организм: суточная потребность составляет 800–1200 мг/день с продуктами питания или препаратами. При дефиците витамина Д необходим его прием в дозе минимум 800 МЕ/сут.

Эффективность антиостеопорозных препаратов показана только при совместном приеме препаратов кальция и витамина Д. При этом необходимо подбирать дозы витамина Д согласно его концентрации в сыворотке крови (минимум 30 нг/мл), а кальция – до достижения нормокальциемии. Все больные, получающие кортикостероиды, должны профилактически принимать 1000 МЕ витамина Д3 (холекальциферола) и 1000–2000 мг кальция. Для остальных пациентов прием этих препаратов рекомендуется в ситуации дефицита кальция. Однако только приема кальция и витамина Д недостаточно для лечения остеопороза. В качестве профилактических мероприятий рекомендуют также контроль массы тела, достаточную физическую активность, здоровый образ жизни.

Несколько исследований реципиентов алло-ТГСК показали выраженное повышение костной плотности в результате использования бисфосфонатов [25–27]. Бисфосфонаты применяют также и без предварительной оценки костной плотности перед ТГСК. Исследования показывают, что эти препараты хорошо переносятся, но исследуемые популяции весьма гетерогенны.

Все пациенты, получающие кортикостероиды по поводу хронической РТПХ, имеют высокий риск развития остеопороза; им рекомендовано профилактическое применение бисфосфонатов независимо от Т-показателя на ДРО [2]. Интересно, что у пациентов после алло-ТГСК костная плотность поясничного отдела позвоночника не является абсолютным предиктором переломов – они могут произойти и при незначительном снижении КМП [28]. Кроме того, потеря

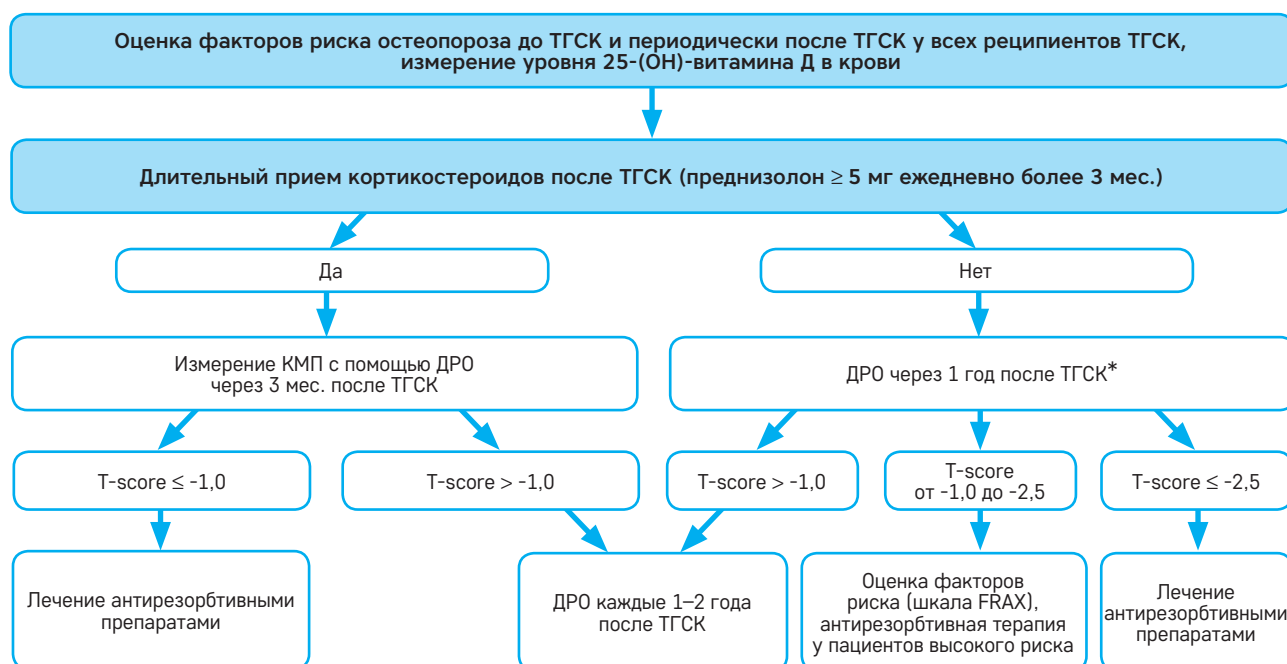
костной плотности может произойти очень быстро – в течение первых месяцев от начала приема кортикостероидов. Пока нет достоверных данных, свидетельствующих о том, что бисфосфонаты способны снизить риск переломов костей. *B.N. Savani, et al.* показали, что снижение костной плотности у реципиентов ТГСК не ассоциировано с риском переломов [16]. Рекомендации по профилактике остеопороза и переломов у пациентов после алло-ТГСК приведены на *рисунке*.

Лечение первой линии

На основании многочисленных исследований специфическая терапия остеопении/остеопороза у пациентов после алло-ТГСК рекомендуется при снижении Т-показателя ДРО до $-1,5$ и более или при наличии остеопорозных переломов [22]. В настоящее время лечение остеопороза первой линии включает в себя бисфосфонаты совместно с приемом витамина Д и кальция. Парентеральное введение бисфосфонатов ассоциировано с низким риском побочных эффектов, хорошей длительной переносимостью. Пероральный прием также возможен, но при отсутствии мальабсорбции и патологии ЖКТ, а также при хорошем «комплаенс» с пациентом. Пероральный прием бисфосфонатов не рекомендован иммобилизованным больным, пациентам с дисфагией, кишечной РТПХ. Золедроновая кислота противопоказана пациентам с выраженной почечной недостаточностью (скорость клубочковой фильтрации менее 45 мл/мин). Описаны такие редкие побочные эффекты бисфосфонатов, как остеонекроз челюсти,

Рисунок

Руководство по скринингу, предупреждению и лечению остеопороза после аллогенной ТГСК [7]



* Пациентам высокого риска остеопороза ДРО проводится раньше.

реакции острой фазы, гипокальциемия, язвенное поражение пищевода. Остеонекроз челюсти – тяжелое осложнение, которое может приводить к челюстно-лицевой мутиляции [29]. Наибольшее число случаев описано при использовании бисфосфонатов у пациентов с множественной миеломой после алло-ТГСК, которые получали большое количество бисфосфонатов до ТГСК. Встречаемость данного осложнения варьирует от 4,5 до 15% при парентеральном введении [30]. Риск развития остеонекроза челюсти повышен у пациентов со злокачественными заболеваниями после алло-ТГСК, которые получают высокие дозы внутривенных бисфосфонатов, и составляет 1–10 случаев на 100 пациентов [31].

До сих пор не вполне ясно, как часто и насколько длительно надо вводить бисфосфонаты. В среднем рекомендуют терапию золедроновой кислотой в дозе 4 мг 1 раз в 3 мес., минимум 1 год после алло-ТГСК [32]. При первичном и глюкокортикоид-индуцированном остеопорозах рекомендуется вводить золедроновую кислоту 1 раз в год в дозе 5 мг [31].

Заместительная гормональная терапия. Преждевременная овариальная недостаточность и гипогонадизм – наиболее частые осложнения молодых пациентов после алло-ТГСК. Овариальная недостаточность развивается в 70–95% случаев после алло-ТГСК [33]. Эстрогены обладают способностью подавлять активность остеокластов и ускоряют их апоптоз. Андрогены могут непосредственно влиять на дифференцировку остеобластов. Поэтому гормональный профиль (ЛГ, ФСГ, эстрадиол и прогестерон) необходимо оценивать через 3–6 мес. после алло-ТГСК. Заместительная гормональная терапия эстрогенами/прогестероном обычно рекомендована пациенткам с преждевременной овариальной недостаточностью, однако имеются противопоказания – тромбоз эмболия, повышенный риск рака молочной железы, сердечно-сосудистые заболевания, выраженная патология печени [2]. И все-таки изолированного применения заместительной гормональной терапии недостаточно, лечение остеопороза после алло-ТГСК многофакторно и требует комплексного подхода к терапии.

Терапия второй линии

Кальцитонин. Средства на основе кальцитонина подавляют костную резорбцию. Кальцитонин – гормон, вырабатываемый С-клетками щитовидной железы, антагонист паратиреоидного гормона, совместно с ним участвует в регулировании кальциевого обмена в организме. Чаще всего применяют синтетический кальцитонин лососа – его структура обладает большим сродством к рецепторам, за счет этого он в 40 раз активнее человеческого. Подавляя действие остеокластов за счет воздействия на специфические

рецепторы, кальцитонин лососа существенно снижает скорость обмена костной ткани до нормального уровня при состояниях с повышенной скоростью резорбции. Кроме того, препарат обладает анальгетической активностью при болях костного происхождения, которая связана с непосредственным воздействием на ЦНС. При остеопорозе препарат назначают подкожно или внутримышечно в суточной дозе 50 МЕ или 100 МЕ ежедневно или через день (одновременно с адекватными дозами препаратов кальция и витамина Д). Продолжительность лечения – минимум 3 мес.

Пептиды гормона паращитовидной железы – такие, как человеческий рекомбинантный пептид паратгормона 1–34 (терипаратид) или полноцепочечный человеческий рекомбинантный паратгормон 1–84, можно применять в качестве терапии второй линии. Терипаратид уже подтвердил свою эффективность в лечении глюкокортикоид-индуцированного остеопороза [34]. Показано, что ежедневные подкожные инъекции терипаратида повышают КМП поясничного отдела позвоночника и предупреждают развитие переломов как позвоночника, так и других костей [35]. Другой анаболический препарат – абалопаратид, синтетический аналог паратгормона 1–34, находится в процессе разработки. Вследствие различий конформаций рецептора РТН1 между терипаратидом и абалопаратидом последний демонстрирует анаболические эффекты с меньшим количеством костно-резорбтивных осложнений. Аналоги паратгормона могут быть альтернативой бисфосфонатам вследствие их анаболического и стимулирующего эффекта на остеогенез. Противопоказанием к их применению служат выраженная почечная недостаточность, гиперкальциемия, лучевая терапия на область костей, злокачественные заболевания с поражением костей. Таким образом, их нельзя применять при тотальном облучении тела в кондиционировании. Использование терипаратида ограничено двумя годами, так как при исследованиях на животных получены преклинические данные о развитии остеосаркомы и снижении последующего эффекта нарастания костной ткани. К тому же имеется незначительный опыт его использования у пациентов после алло-ТГСК. Требуются исследования эффективности аналогов паратгормона у реципиентов ТГСК, особенно учитывая, что они могут играть специфическую роль в стимуляции дифференцировки мезенхимальных клеток в остеобласты.

Селективный модулятор рецептора эстрогена – ралоксифен. Этот антиостеопорозный препарат рекомендован пациенткам с семейным раком молочной железы. Противопоказан при тромбоз эмболии, выраженной почечной и печеночной недостаточности, маточном кровотечении неизвестной этиологии. Ралоксифен одобрен при первичном остеопорозе.

Денозумаб – человеческие высокоаффинные моноклональные антитела к RANKL, потенциально новая терапия остеопороза [36], особенно для пациентов после алло-ТГСК, так как влияет на процессы, вызванные глюкокортикоидами, гипогонадизмом и цитокинами. Действие денозумаба описано в лечении остеопороза у женщин в постменопаузе: продемонстрировано значительное снижение риска переломов шейки бедра, позвоночника и других костей [37]. Преимущества денозумаба: быстрое начало действия, длительный эффект на протяжении нескольких месяцев после одной инъекции, хорошая переносимость (особенно у пациентов с нарушенной функцией почек) [38].

В отличие от комбинаций с бисфосфонатами совместное применение денозумаба и терипаратида показало свою эффективность в отношении воздействия на КМП [39]. Эта комбинация оказывает самый значимый эффект на предупреждение переломов. Рекомендуется начинать лечение с применения терипаратида с последующим присоединением денозумаба, тогда наблюдается наиболее выраженное увеличение КМП поясничного отдела позвоночника и проксимального отрезка бедренной кости.

Ромозозумаб – это антитела к склеростину, которые подавляют действие склеростина, канонического ингибитора сигнала Wnt, секретлируемого остеоцитами, таким образом, усиливая сигнальное воздействие Wnt. Ромозозумаб повышает КМП позвоночных костей и бедренной кости в течение 12 мес. и предотвращает переломы позвоночника и других костей у пациентов с остеопорозом путем усиления образования костной ткани и снижения костной резорбции [40–42]. Третья фаза клинического исследования ромозозумаба показала, что препарат достоверно повышает КМП в поясничном отделе позвоночника на 13,3%, в проксимальном отрезке бедренной кости – на 6,8% за 12 мес., а также предупреждает развитие переломов позвоночника и других клинически значимых переломов у женщин с остеопорозом в постменопаузе [43].

Воздействие ромозозумаба одновременно на костную продукцию и резорбцию уникально. В исследовании 3-й фазы по сравнению с плацебо показано, что ромозозумаб снижает риск переломов позвоночника на 73% после первого года лечения (ежемесячные подкожные введения 210 мг препарата), а при последующем присоединении денозумаба на втором году риск переломов позвоночника уменьшается на 75% [43]. Препарат хорошо переносится и не имеет серьезных побочных эффектов, встречаемость местных реакций составляет 5,2%. Обеспечивая выраженную защиту от переломов уже через 12 мес. терапии, ромозозумаб является наиболее эффективным видом лечения остеопороза.

Наблюдение. После начала терапии бисфосфонатами костная плотность более не коррелирует с риском переломов. Тем не менее ДРО рекомендуется каждые 24 мес. До сих пор не понятно, как долго следует проводить терапию остеопороза.

Особенности лечения остеопороза у детей

Максимальное количество костной массы формируется к третьей декаде жизни. Пациенты, у которых не была достигнута оптимальная костная плотность в детстве, особенно в подростковом периоде, более подвержены остеопорозным переломам позже, на протяжении жизни, поэтому так важно лечить остеопороз у детей.

Измерение костной плотности у детей проблематично, так как нормы костной плотности для детского возраста плохо разработаны [44]. При выполнении ДРО у детей необходимо учитывать размер костей, зрелость костной ткани и комплекцию тела. Постановку диагноза «остеопороз» у детей нельзя выполнять только на основании денситометрии. Требуется наличие клинически значимой истории переломов и низкий уровень костной плотности (Z -показатель $\leq -2,0$) в соответствии с возрастом, полом и размером тела. Значения Z -показателя от $-1,0$ до $-2,0$ определены как нижняя граница нормы [45, 46]. Выполнение ДРО у детей ограничено в силу возраста и маленького размера костей [47, 48]. Более точные измерения можно выполнить с помощью количественной компьютерной томографии [49].

Важный фактор риска остеопороза у детей – снижение функции половых желез вследствие повреждения гонад в результате химио- и лучевой терапии. Особенно страдают девочки, получившие токсичное лечение в пубертатном возрасте [44], поэтому определение костной плотности рекомендуется девочкам и пациентам высокого риска (находящимся на пролонгированной иммуносупрессивной терапии и/или с низкой костной плотностью и иммобилизацией).

До сих пор не создано консенсуса и руководства по лечению остеопороза у детей. Решение о фармакологическом вмешательстве обычно принимает детский эндокринолог. Для принятия решения должно быть проведено комплексное лабораторное обследование ребенка: общий анализ крови, уровень кальция и фосфора в крови, щелочная фосфатаза, паратгормон, 25-гидрокси-витамин Д, мочевины, креатинин, кальций в моче, клиренс креатинина, гормональный скрининг (лютеинизирующий гормон, фолликулостимулирующий гормон, эстрадиол, тестостерон, инсулиноподобный фактор роста 1, свободный Т4, тиротропный гормон) [50].

Лечение остеопороза у детей включает в себя повышение физических нагрузок, оптимизацию поступления в организм кальция и витамина Д, лече-

ние гипогонадизма или РТПХ [51]. Суточная доза кальция для детей в возрасте 9–18 лет должна составлять 1300 мг, а витамина Д – 600 МЕ ежедневно после первого года жизни с дальнейшим увеличением дозы до достижения содержания витамина Д в сыворотке крови не менее 20 нг/мл. Чем ниже содержание витамина Д, тем тяжелее протекает заболевание. Физические нагрузки подразумевают не только активные упражнения, но и статические техники, физические методы терапии и вибрационную терапию.

Фармакологические препараты становятся необходимыми, если вышеперечисленные методы не помогают или случаются переломы под воздействием самых незначительных травм. Идеальными препаратами выглядят анаболики в виде синтетического паратгормона (терипаратид), однако их надо применять с осторожностью при открытых зонах роста. При наличии гипогонадизма обязательно проведение заместительной гормональной терапии.

Препараты кальцитонина (синтетический кальцитонин лососа) применяют у детей в интраназальной форме выпуска. Некоторые специалисты рассматривают комбинированную (препараты кальция и витамин Д) терапию кальцитонином как этап лечения остеопороза у детей, предшествующий бисфосфонатам [52]. Кальцитонин обладает хорошим уровнем безопасности, не отмечено специфических для детей побочных эффектов. Однако установлена связь с увеличением риска онкологической патологии у взрослых, что может ограничивать его применение у детей [53].

Бисфосфонаты применяют в педиатрической практике с целью лечения несовершенного остеогенеза и вторичного остеопороза уже более 30 лет. Но до сих пор не достигнуто консенсуса относительно оптимального агента, дозы и длительности терапии. Обычно их используют только при средних и тяжелых формах остеопороза у детей. В качестве критериев оценки степени тяжести остеопороза предложены наличие и выраженность болевого синдрома, количество, частота, локализация переломов, наличие и выраженность костных деформаций, степень снижения костной массы и плотности, выраженность нарушений костного метаболизма, степень нарушения качества жизни [53, 54]. Многие исследователи рекомендуют применение бисфосфонатов у детей только в случае снижения костной плотности, при повторных периферических переломах и/или симптоматической компрессии тел позвонков [54]. Введение парентеральных форм бисфосфонатов осуществляют в условиях стационара под наблюдением специалиста. Наиболее широко применяют памидронат в дозе 4–9 мг/кг/год. Золедроновая кислота в 100–200 раз более эффективна, ее можно вводить быстрее,

а длительность действия у женщин с остеопорозом в менопаузе достигает 3 лет. Детям золедроновую кислоту назначают в дозе 0,1 мг/кг/год с кратностью введения 1 раз в 3 или 6 мес. [55, 56]. У детей наблюдаются минимальные побочные эффекты терапии (тошнота, лихорадка, слабость, мышечные боли). Вероятность гипокальциемии, гипомагниемии и гипофосфатемии может быть снижена путем назначения адекватных доз кальция и витамина Д. У детей не описаны атипичные переломы бедра или остеонекроз челюсти. Лечение продолжается длительно, максимальный эффект отмечен при применении памидроната на протяжении 2–4 лет с переходом на поддерживающую дозу.

Применение в педиатрии моноклональных антител денозумаба очень ограничено вследствие недостаточности клинических исследований, а ромозозумаб в детской практике еще не использовали.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Снижение костной минеральной плотности – значимое осложнение алло-ТГСК у детей, которое повышает риск возникновения атравматичных переломов. Остеопороз нарушает развитие детского организма, отражает комплекс проблем со стороны соматических органов и систем, значительно ограничивает активность и социальную адаптацию. В последние годы совершенствуются способы диагностики остеопении/остеопороза, разработано множество препаратов, воздействующих на различные механизмы формирования костной ткани. Современный консенсус предлагает руководство по скринингу, профилактике и лечению остеопороза в рутинной практике. Однако с целью оценки и выбора адекватного способа терапии требуются дополнительные клинические исследования, особенно в детской популяции. Лечение остеопении/остеопороза – сложный и длительный процесс. Необходимы четкое соблюдение схемы мониторинга, ранней диагностики для своевременного выявления нарушений, а также индивидуализированный подход к лечению с учетом анамнеза, сопутствующих проблем и соматического статуса.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Ю.В. Скворцова <http://orcid.org/0000-0002-0566-053X>

А.А. Масчан <http://orcid.org/0000-0002-0016-6698>

Литература

- Hautmann A.H., Elad S., Lawitschka A., et al. Metabolic bone diseases in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: report from the Consensus Conference on Clinical Practice in chronic graft-versus-host disease. *Transpl Int* 2011 Sep; 24 (9): 867–79.
- Tauchmanová L., Colao A., Lombardi G., et al. Bone loss and its management in long-term survivors from allogeneic stem cell transplantation. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 Dec; 92 (12): 4536–45.
- Abou-Mourad Y.R., Lau B.C., Barnett M.J., et al. Long-term outcome after allo-SCT: close follow-up on a large cohort treated with myeloablative regimens. *Bone Marrow Transplant* 2010 Feb; 45 (2): 295–302.
- Yao S., McCarthy P.L., Dunford L.M., et al. High prevalence of early-onset osteopenia/osteoporosis after allogeneic stem cell transplantation and improvement after bisphosphonate therapy. *Bone Marrow Transplant* 2008 Feb; 41 (4): 393–8.
- Petropoulou A.D., Porcher R., Herr A.L., et al. Prospective assessment of bone turnover and clinical bone diseases after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation* 2010 Jun 15; 89 (11): 1354–61.
- Consensus Development Conference. Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 1993; 94: 646.
- McClune B.L., Polgreen L.E., Burmeister L.A., et al. Screening, prevention and management of osteoporosis and bone loss in adult and pediatric hematopoietic cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 2011 Jan; 46 (1): 1–9.
- Baim S., Leonard M.B., Bianchi M.L., et al. Official Positions of the International Society for Clinical Densitometry and executive summary of the 2007 ISCD Pediatric Position Development Conference. *J Clin Densitom* 2008 Jan-Mar; 11 (1): 6–21.
- Gordon C.M., Bachrach L.K., Carpenter T.O., et al. Dual energy X-ray absorptiometry interpretation and reporting in children and adolescents: the 2007 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom* 2008 Jan-Mar; 11 (1): 43–58.
- Majhail N.S., Rizzo J.D., Lee S.J., et al. Recommended screening and preventive practices for long-term survivors after hematopoietic cell transplantation. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2012; 34 (2): 109–33.
- Weilbaecher K.N. Mechanisms of osteoporosis after hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2000; 6 (2A): 165–74.
- Hamdy N.A. Targeting the RANK/RANKL/OPG signaling pathway: a novel approach in the management of osteoporosis. *Curr Opin Investig Drugs* 2007 Apr; 8 (4): 299–303.
- Petryk A., Bergemann T.L., Polga K.M., et al. Prospective study of changes in bone mineral density and turnover in children after hematopoietic cell transplantation. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 Mar; 91 (3): 899–905.
- Schulte C., Beelen D.W., Schaefer U.W., Mann K. Bone loss in long-term survivors after transplantation of hematopoietic stem cells: a prospective study. *Osteoporos Int* 2000; 11 (4): 344–53.
- Schimmer A.D., Minden M.D., Keating A. Osteoporosis after blood and marrow transplantation: clinical aspects. *Biol Blood Marrow Transplant* 2000; 6 (2A): 175–81.
- Savani B.N., Donohue T., Kozanas E., et al. Increased risk of bone loss without fracture risk in long-term survivors after allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007 May; 13 (5): 517–20.
- Lee W.Y., Baek K.H., Rhee E.J., et al. Impact of circulating bone-resorbing cytokines on the subsequent bone loss following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2004 Jul; 34 (1): 89–94.
- Baek K.H., Oh K.W., Lee W.Y., et al. Changes in the serum sex steroids, IL-7 and RANKL-OPG system after bone marrow transplantation: influences on bone and mineral metabolism. *Bone* 2006 Dec; 39 (6): 1352–60.
- Buchs N., Helg C., Collao C., et al. Allogeneic bone marrow transplantation is associated with a preferential femoral neck bone loss. *Osteoporos Int* 2001; 12 (10): 880–6.
- De Vries F., Bracke M., Leufkens H.G., et al. Fracture risk with intermittent high-dose oral glucocorticoid therapy. *Arthritis Rheum* 2007 Jan; 56 (1): 208–14.
- Kanis J.A., Burlet N., Cooper C., et al. European guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2008 Apr; 19 (4): 399–428. PMID: 18266020.
- Carpenter P.A., Kitko C.L., Elad S., et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: V. The 2014 Ancillary Therapy and Supportive Care Working Group Report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015 Jul; 21 (7): 1167–87.
- van Staa T.P., Leufkens H.G., Cooper C. The epidemiology of corticosteroid-induced osteoporosis: a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2002 Oct; 13 (10): 777–87.
- Rizzo J.D., Wingard J.R., Tichelli A., Lee S.J., Van Lint M.T., Burns L.J., et al. Recommended screening and preventive practices for long-term survivors after hematopoietic cell transplantation: joint recommendations of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, the Center for International Blood and Marrow Transplant Research, and the American Society of Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006 Feb; 12 (2): 138–51.
- Hausmann A., Hill W., Stemmler H.J., et al. *Chemother Res Pract*. 2012; 2012: 858590. Epub 2012 Apr 10. PMID: 22550587.
- Drake M.T., Clarke B.L., Khosla S. Bisphosphonates: Mechanism of Action and Role in Clinical Practice. *Mayo Clin*

- Proc. Author manuscript; available in PMC 2009 Sep 1. Published in final edited form as: Mayo Clin Proc 2008 Sep; 83 (9): 1032–45.
27. D'Souza A.B., Grigg A.P., Szer J., Ebeling P.R. Zoledronic acid prevents bone loss after allogeneic haemopoietic stem cell transplantation. *Intern Med J* 2006 Sep; 36 (9): 600–3.
 28. Stern J.M., Sullivan K.M., Ott S.M., et al. Bone density loss after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a prospective study. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001; 7 (5): 257–64.
 29. Ruggiero S.L., Drew S.J. Osteonecrosis of the jaws and bisphosphonate therapy. *J Dent Res* 2007 Nov; 86 (11): 1013–21. PMID: 17959890.
 30. Durie B.G., Katz M., Crowley J. Osteonecrosis of the jaw and bisphosphonates. *N Engl J Med* 2005 Jul 7; 353 (1): 99–102.
 31. Serefoglu E.C., Tandogdu Z. Efficacy and safety of zoledronic acid in the treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Ther Clin Risk Manag* 2010 May 25; 6: 219–23.
 32. Chae Y.S., Kim J.G., Moon J.H., et al. Pilot study on the use of zoledronic acid to prevent bone loss in allo-SCT recipients. *Bone Marrow Transplant* 2009 Jul; 44 (1): 35–41.
 33. Tauchmanová L., Selleri C., Rosa G.D., et al. High prevalence of endocrine dysfunction in long-term survivors after allogeneic bone marrow transplantation for hematologic diseases. *Cancer* 2002 Sep 1; 95 (5): 1076–84.
 34. Adler R.A. Glucocorticoid-induced osteoporosis: management update. *Curr Osteoporos Rep* 2010 Mar; 8 (1): 10–4.
 35. Neer R.M., Arnaud C.D., Zanchetta J.R., et al. Effect of parathyroid hormone (1–34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2001 May 10; 344 (19): 1434–41.
 36. McClung M.R. Inhibition of RANKL as a treatment for osteoporosis: pre-clinical and early clinical studies. *Curr Osteoporos Rep* 2006 Mar; 4 (1): 28–33.
 37. Cummings S.R., San Martin J., McClung M.R., et al. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *FREEDOM Trial. N Engl J Med* 2009 Aug 20; 361 (8): 756–65.
 38. Ebeling P.R. Approach to the patient with transplantation-related bone loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2009 May; 94 (5): 1483–90.
 39. Tsai J.N., Uihlein A.V., Lee H., et al. Teriparatide and denosumab, alone or combined, in women with postmenopausal osteoporosis: the DATA study randomised trial. *Lancet* 2013 Jul 6; 382 (9886): 50–6.
 40. Minisola S. Romosozumab: from basic to clinical aspects. *Expert Opin Biol Ther* 2014 Sep; 14 (9): 1225–8.
 41. Lim S.Y., Bolster M.B. Profile of romosozumab and its potential in the management of osteoporosis. *Drug Des Devel Ther* 2017 Apr 13; 11: 1221–31.
 42. Bandeira L., Lewiecki E.M., Bilezikian J.P. Romosozumab for the treatment of osteoporosis. *Expert Opin Biol Ther* 2017 Feb; 17 (2): 255–63.
 43. Cosman F., Crittenden D.B., Adachi J.D., et al. Romosozumab Treatment in Postmenopausal Women with Osteoporosis. *N Engl J Med* 2016 Oct 20; 375 (16): 1532–43.
 44. Faraci M., Békássy A.N., De Fazio V., et al. Non-endocrine late complications in children after allogeneic haematopoietic SCT. *EBMT Paediatric and Late Effects Working Parties. Bone Marrow Transplant* 2008 Jun; 41 Suppl 2: 49–57.
 45. Shaw N.J. Management of osteoporosis in children. *Eur J Endocrinol* 2008 Dec; 159 (Suppl 1): 33–9.
 46. Bachrach L.K. Osteoporosis in children: still a diagnostic challenge. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 Jun; 92 (6): 2030–2.
 47. Klopfenstein K.J., Clayton J., Rosset R., et al. Prevalence of abnormal bone density of pediatric patients prior to blood or marrow transplant. *Pediatr Blood Cancer* 2009 Oct; 53 (4): 675–7.
 48. Daniels M.W., Wilson D.M., Paguntalan H.G., et al. Bone mineral density in pediatric transplant recipients. *Transplantation* 2003 Aug 27; 76 (4): 673–8.
 49. Kaste S.C. Bone-mineral density deficits from childhood cancer and its therapy. A review of at-risk patient cohorts and available imaging methods. *Pediatr Radiol* 2004 May; 34 (5): 373–8.
 50. Bachrach L.K. Diagnosis and treatment of pediatric osteoporosis. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2014 Dec; 21 (6): 454–60.
 51. Wasilewski-Masker K., Kaste S.C., Hudson M.M., et al. Bone mineral density deficits in survivors of childhood cancer: long-term follow-up guidelines and review of the literature. *Pediatrics* 2008 Mar; 121 (3): 705–13.
 52. Лисицын А.О. Опыт применения ибандроновой кислоты у больных с тяжелым течением ревматических болезней и системным остеопорозом. *Вопросы современной педиатрии*, 2010; 9 (1): 116–21.
 53. Почкайло А.С. Современные подходы к лечению остеопороза у детей. *Вопросы аттестации и повышения квалификации. Медицинские новости*, 2013; 7: 42–8.
 54. Bachrach L.K., Ward L.M. Clinical review 1: Bisphosphonate use in childhood osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2009 Feb; 94 (2): 400–9.
 55. Simm P.J., Johannesen J., Briody J., et al. Zoledronic acid improves bone mineral density, reduces bone turnover and improves skeletal architecture over 2 years of treatment in children with secondary osteoporosis. *Bone* 2011 Nov; 49 (5): 939–43.
 56. Ooi H.L., Briody J., Biggin A., et al. Intravenous zoledronic Acid given every 6 months in childhood osteoporosis. *Horm Res Paediatr* 2013; 80 (3): 179–84.

Длина теломер и здоровье детей

З.Р. Кагирова¹, И.А. Дёмина², Б.М. Блохин¹, А.Г. Румянцев²

¹ ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

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

В обзоре литературы авторы подробно описали современные представления о структуре и функции теломер, теломеразного и шелтеринового комплексов. Статья содержит обзор данных и опубликованных к настоящему времени результатов исследования длины теломер у здоровых детей разного возраста, связь длины теломер и некоторых заболеваний, а также влияния ряда физиологических факторов на длину теломер у детей.

Ключевые слова: теломера, теломеразный комплекс, шелтериновый комплекс, длина теломеры, дети.

Контактная информация:

Дёмина Ирина Андреевна, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии и иммуногенеза НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.
Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1
Тел.: 8 (495) 287-6570, доб. 5615
E-mail: idemina@mail.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-4-107-112

Telomere length and children's health

Z.R. Kagirowa¹, I.A. Demina², B.M. Blokhin¹, A.G. Rumyantsev²

¹ Pirogov Russian National Research Medical University Ministry of the Healthcare of Russian Federation, Moscow

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

In the review of the literature, the authors described in detail modern concepts of the structure and functions of telomeres, telomerase and shelterin complexes. The article contains an overview of the data and published to date the results of a study of telomere length in healthy children of different ages, the relationship between body length and certain diseases, as well as the influence of a number physiological factors on the length of children telomere.

Key words: telomere, telomerase complex, shelterin complex, length of telomeres, children.

Correspondence:

Irina A. Demina, PhD, leading scientist Laboratory of cell's immunology and immunogenesis Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation.
Address: Russia 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
Tel.: +7 (495) 287-6570, ext. 5615
E-mail: idemina@mail.ru

Понятие «теломера» происходит от древнегреческих слов *τέλος* – конец и *μερὸς* – часть. Впервые это название специфических концевых участков хромосом было предложено Г. Мюллером (*Hermann Joseph Muller*) в 1932 году. Теломеры представляют собой участки ДНК на концах хромосом, которые состоят из определенных повторяющихся несмысловых последовательностей. Для них характерна высокая гетерогенность в разных клетках и тканях даже одного организма (рис. 1). Межвидовые различия в размерах теломер оказались весьма существенными – приблизительно от 50 пар оснований (п.о.) в клетках жгутиковых организмов до 50 тыс. п.о. у одного из видов мышей. У человека теломеры состоят из tandemных шестичленных повторов последовательностей ДНК, богатых G-основаниями, TTAGGG, которые связаны с комплексом из шести белков – так называемым шелтериновым комплексом (*shelterin complex*), защищающим теломеры от влияния механизмов репарации ДНК [2]. В него входят следующие белки (рис. 2):

1. TRF1 (*Telomere Repeat Factor 1*) – гомодимер, связывающийся с двухцепочечной TTAGGG-областью теломеры. Он обладает способностью ингибировать удлинение теломер теломеразой.

2. TRF2 (*Telomere Repeat Factor 2*) – гомодимер, которые связывается с той же областью, что и

TRF1, но препятствует распознаванию двуспирально-го разрыва участка ДНК как повреждения, нуждающегося в репарации.

3. POT1 (*Protection of Telomere 1*) содержит олигосахара, обуславливающие его сродство к одностороннему участкам теломер, которые он защищает благодаря нуклеазной защите участков цепи, богатой гуанином.

4. RAP1 (*Repressor/Activator Protein 1*) – белок-стабилизатор TRF2.

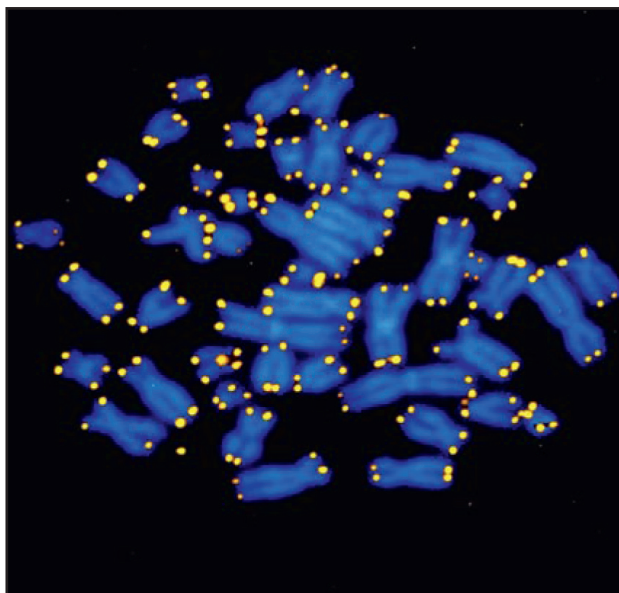
5. TIN2 (*TRF1- and TRF2-Interacting Nuclear Protein 2*) – белок, стабилизирующий TPP1-POT1-комплекс, а также TRF1 и TRF2.

6. TPP1 (*TINT1, PTPOR, PIP1*): TPP1 – белок, необходимый для полноценного функционирования POT1.

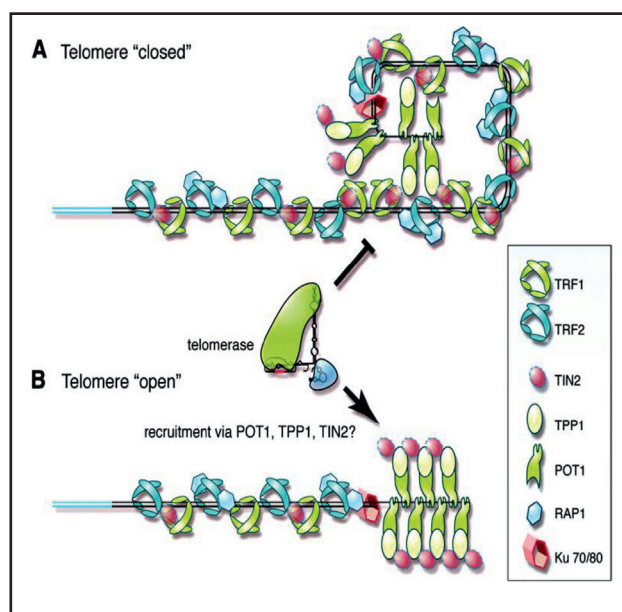
Шелтериновый комплекс позволяет теломере уходить от классических восстановительных процессов, активизирующихся при обнаружении поврежденного ДНК. Эта особенность чрезвычайно важна для выполнения основной функции теломер – защите концов хромосом от недорепликации, которая происходит в клетке при каждом клеточном делении. Это связано с неспособностью ДНК-полимеразного комплекса синтезировать новую копию ДНК с самого конца, поскольку она может только добавлять нуклеотиды к уже имеющейся 3'-гидроксильной группе, то есть она нуждается в некотором стартовом

Рисунок 1

Длины теломер на концах каждой отдельной хромосомы заметно отличаются. Теломеры визуализировались с использованием количественной флуоресценции *in situ* гибридизации (Q-FISH) с применением зондов пептидно-нуклеинового комплекса. Желтым цветом показаны теломеры; ДНК хромосом, окрашенная DAPI, – синим цветом. Флуоресценция на теломерах сестринских хроматид обычно имеет равную интенсивность [1]

**Рисунок 2**

Функционально-теломерная последовательность связана с белками, которые взаимодействуют непосредственно с двухнитевыми теломерными повторами (гомомодимеры TRF1 и TRF2). Они связываются с G-богатой областью в самом конце хромосомы (POT1) и белками, которые взаимодействуют с RAP1, TPP1 и TIN2. В структуре на месте соединения одно- и двухцепочечной цепей теломерной ДНК присутствует также комплекс Ku70/80: **A** – теломера «закрыта»; TPP1 и POT1 образуют комплекс с теломерной ДНК через TIN2 и TRF1/2, если длина теломеры достаточна для прикрепления. TRF1 и -2, как известно, изгибают теломеру, в результате доступ теломеразы к ДНК оказывается заблокирован; **B** – теломера «открыта»; TPP1/POT1 рекрутирует и стимулирует ферментативную активность теломеразы преимущественно в коротких теломерах [1]



участке ДНК – праймере, к которому она могла бы добавить первый нуклеотид. В 1961 году Л. Хейфлик (*L. Hayflick*), наблюдая рост и умирание соматических клеток человека, выращиваемых в культуре, предположил наличие некоторого предела делений, которые способна совершить клетка прежде чем погибнет [3]. Этот предел, названный пределом Хейфлика, составляет для клеток человека 52 деления. Он предположил, что феномен умирания клеточной культуры можно использовать в качестве модели для изучения старения человека на молекулярном и клеточном уровнях. Однако роль репликативного старения в процессе старения человека и актуальности исследований *in vitro* долгое время оставались предметом споров. Клетки, по-видимому, делятся либо для сохранения нормального их числа при естественной убыли, либо в ответ на травмы. Многие клетки в организме человека могут разделяться во много раз больше, чем необходимо в течение обычного срока их жизни. Митотическая «резервная мощность» использовалась в качестве аргумента против идеи о том, что репликативное старение имеет какое-либо отношение к старению человеческого организма в целом. Однако нельзя ожидать, что все (в том числе стволовые) клетки в организме имеют подобный потенциал. Кроме того, очень трудно оценить фактическую репликативную активность стволовых клеток в тканях, таких как кишечник и костный мозг, в течение жизни с достаточной степенью точности. Оценки разных исследователей относительно гемопоэтических стволовых клеток у человека различаются более чем в 100 раз [4]. Конечность делений клетки в первую очередь связана с постепенным укорочением длины теломер при каждом следующем делении, что в итоге приводит к исчезновению стартовой площадки для ДНК-полимеразы и ее невозможности начинать удвоение ДНК для полноценного воспроизведения хромосом.

Однако при этих процессах длина теломер укорачивалась бы примерно на 50 пар оснований за один клеточный цикл, и клетка умирала бы значительно быстрее. В 1985 году Кэрол Грейдер (*Carol Greider*) обнаружила специфический фермент – обратную транскриптазу, которая катализирует добавление специфических гексануклеотидных повторов к 3' концу хромосомы, – ее назвали теломеразой [5]. Впоследствии было показано, что это не один, а целый комплекс ферментов (теломеразный комплекс), который обеспечивает динамическое равновесие между процессами укорочения и удлинения теломерных последовательностей. Минимальный работающий в системе *in vitro* комплекс теломеразы состоит из каталитической белковой субъединицы TERT, собственно и являющейся обратной транскриптазой, и рибонуклеотидной субъединицы TERC, которая дей-

ствует как матрица для синтеза ДНК. Однако *in vivo* существует множество дополнительных факторов, которые регулируют связывание, транспортировку и активность теломеразы [6, 7]. От уровня экспрессии и активности теломеразного комплекса зависит время жизни клетки. Он наиболее высок в стволовых клетках и на ранних стадиях эмбриогенеза. Мутации в различных компонентах теломеразы, таких как Tert, Terc, Dkc1 и shelterin (Tin2), приводят к ускоренному укорочению теломер и формированию целого ряда заболеваний (врожденный дискератоз, апластическая анемия). Укорочение теломер ниже пороговой длины и/или изменения активности теломер-связывающих белков приводят к потере теломерной защиты. В результате могут происходить слияние хромосом и, как следствие, нарушение их функционирования и репликации, остановка клеточного цикла и апоптоз. Также будут нарушаться и другие функции теломер, включая транскрипционное молчание генов, расположенных вблизи теломер («субтеломерное молчание»), и правильная сегрегация хромосом во время митоза [8]. Повышение активации этого комплекса, напротив, дает клетке возможность практически бесконечного деления, что приводит к формированию злокачественных новообразований [9].

Корреляция между уменьшением длины теломер и гибелью клеток привела к мысли, что этот же механизм лежит в основе старения всего человеческого организма и что в разных клетках активность теломеразного комплекса и длина теломер могут отличаться. Многочисленные исследования подтвердили, что теломеры в зародышевых клетках человека и эмбриональных тканях значительно длиннее, чем в зрелых тканях, и что теломеры укорачиваются с возрастом [10]. Было показано также, что теломеразная активность практически отсутствует в большинстве соматических клеток, но обнаруживается в активно пролиферирующих нормальных клетках и в большинстве случаев рака [11]. В отличие от многих других соматических тканей, гемопоэтические предшественники пролиферируют в костном мозге на протяжении всей жизни для поддержания адекватного числа циркулирующих форменных элементов крови: лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов. К тому же в исследованиях, проведенных при трансплантации костного мозга, однозначно установлено, что в костном мозге здоровых взрослых индивидуумов содержатся мультипотентные предшественники, которые способны полностью восстанавливать гемопоэтические возможности реципиентов после трансплантации. В связи с этим, а также учитывая относительную легкость получения этих клеток, клетки крови чаще всего используют для изучения нормальных показателей длины теломер, их изменений при различных патологиях и как показатель при мониторинге ле-

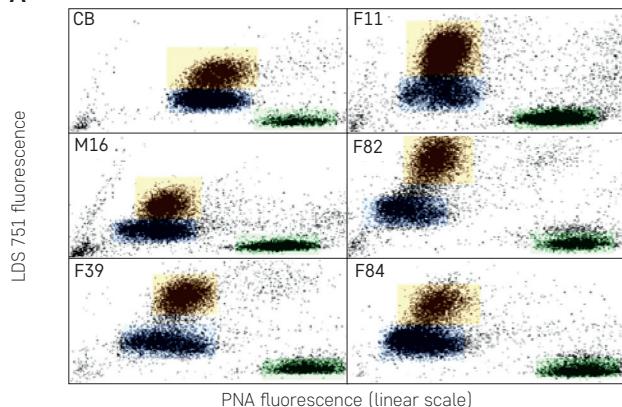
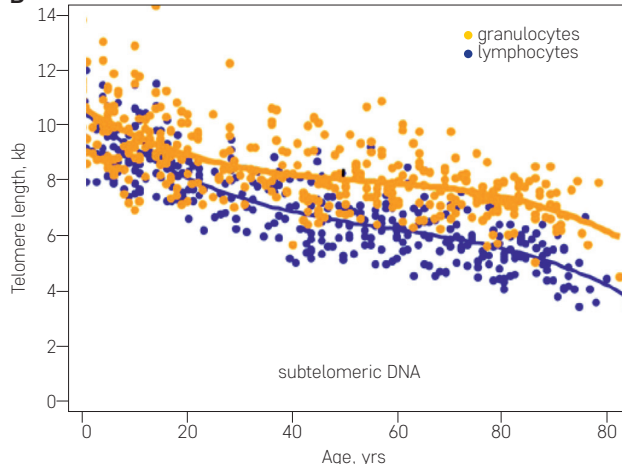
чения. Нормальная периферическая кровь и клетки костного мозга, как правило, имеют относительно низкую активность теломеразы.

Длина теломер может быть измерена в отдельных хромосомах, клетках или геномной ДНК. Есть несколько различных методов для измерения длины теломер, каждый из них имеет определенные преимущества и недостатки. Первый разработанный метод, который сегодня считается «золотым стандартом», – анализ терминальных рестрикционных фрагментов (TRF) с помощью Саузерн-блоттинга в комбинации с флуоресцентной *in situ* гибридизацией; он позволяет определить среднюю длину теломер в клеточной популяции. Достаточно широко используется также проточная цитофлуориметрия (*flow-FISH*), утвержденная для клинического использования, и варианты количественной ПЦР (qPCR). При прямом сравнении результатов исследования длины теломер лейкоцитов человека этими методами было показано, что метод *flow-FISH* по сравнению с другими более точен, чувствителен, специфичен и воспроизводим [12]. В частности, методом TRF, несмотря на признание его «золотым стандартом» измерения, невозможно обнаруживать очень короткие теломеры [13]. Чувствительность и специфичность метода *flow-FISH* достигает 91% в диагностике патологий с ультракороткими теломерами (например, врожденного дискератоза) [14].

Было установлено, что укорочение длины теломер коррелирует с рядом тяжелых заболеваний. Чрезвычайно интересным оказался вопрос о длине теломер в норме (рис. 3). Для адекватного понимания роли укорочения теломер в развитии, течении и лечении многих заболеваний важно установить диапазон нормальных значений этого показателя, особенно у детей. В первую очередь это связано с тем, что длина теломер уменьшается с возрастом не равномерно, как было показано в работе R.W. Frenck и соавт., которые исследовали изменение длины теломер в зависимости от возраста. Измеряли длину теломер лейкоцитов периферической крови у 75 членов 12 семей и в группе неродственных здоровых детей в возрасте 5–48 мес. Было установлено, что длина теломер достоверно различается в зависимости от возраста. Максимальная длина наблюдалась у детей в возрасте 18 мес. Затем, в течение первых пяти лет жизни, происходило быстрое уменьшение длины теломер – со скоростью до 1,0 тыс. пар оснований (kb) в год. Вероятно, это связано с высокой скоростью пролиферации большинства незрелых клеточных линий – предшественников гемопоэза в раннем детском возрасте. Начиная с 5 лет длина теломер стабилизируется и поддерживается на уровне примерно 12 kb до 25-летнего возраста; в дальнейшем начинается неуклонное укорочение теломер по мере уве-

Рисунок 3

Длина теломер в гранулоцитах и лимфоцитах периферической крови человека снижается с возрастом. **А** – цитофлуориметрический анализ ядросодержащих клеток крови (CB – пуповинная кровь; M – мужская; F – женская; число указывает на возраст), гибридованных с флуоресцентно меченым PNA-зондом (CCCTAA), специфичным к нуклеотидной последовательности теломер, также окрашенных LDS751 для выявления ДНК в клетке. LDS позволяет различать гранулоциты (оранжевая область), лимфоциты (синяя область) и контрольные клетки – бычьи тимокиты (зеленая область). Включение одних и тех же контрольных клеток в каждое измерение используется для корректировки повседневной вариации между экспериментами для получения более точных расчетов средней длины теломер в выбранной популяции. Флуоресценция теломер в гранулоцитах и лимфоцитах сходна в раннем возрасте, но, поскольку доля Т-клеток памяти относительно наивных Т-клеток с возрастом возрастает, флуоресценция теломер в лимфоцитах становится все короче относительно гранулоцитов. **В** – результаты расчета медианы флуоресценции теломер в гранулоцитах (оранжевые точки) и лимфоциты (синие точки) от 400 здоровых индивидуумов разного возраста. Длина теломер сильно варьирует в любом возрасте, но с течением времени наблюдается общий спад [1]

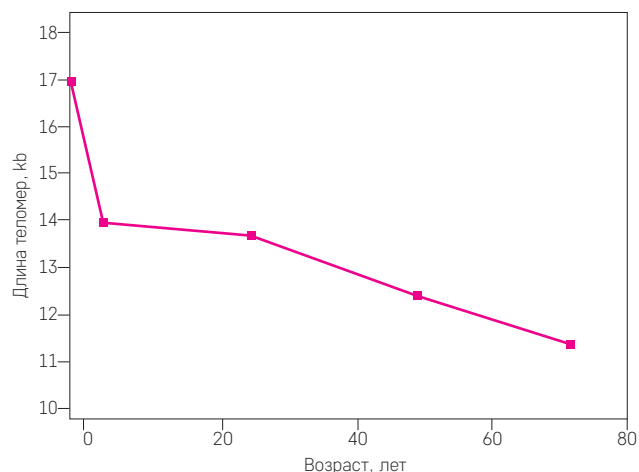
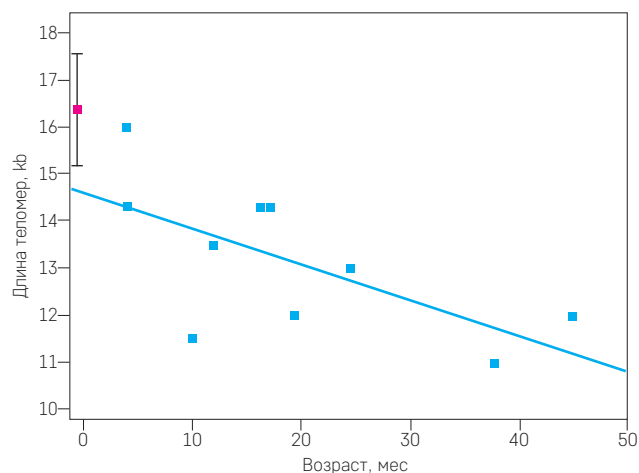
А**В**

личения возраста индивида. При этом длина теломер у здоровых людей уменьшается ниже критического уровня – 5–6 kb (рис. 4).

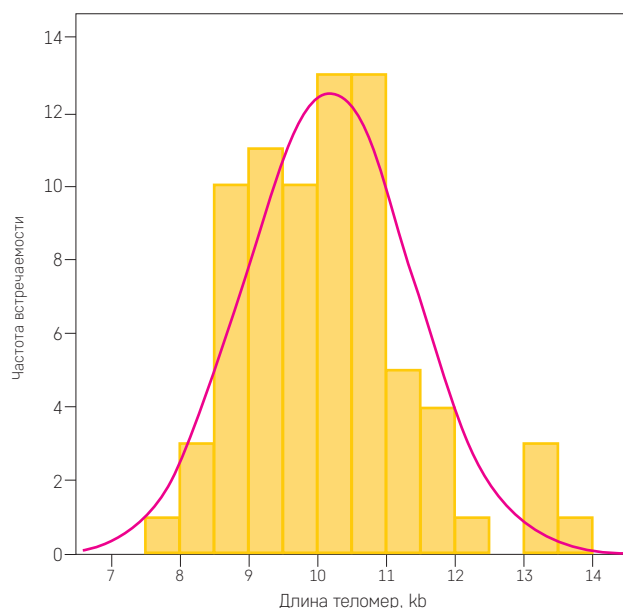
Эти данные свидетельствуют о том, что потеря теломерных повторов в гемопоэтических клетках – динамический процесс, который дифференциально регулируется у маленьких детей и взрослых [15]. После 25 лет при отсутствии патологий, существенно влияющих на качество жизни, и разнообразных

Рисунок 4

Динамика изменения длины теломер, измеренных в лейкоцитах, в зависимости от возраста: первые 2 года жизни характеризуются стремительным укорочением теломер; с 5 до 25 лет наблюдается фаза стабилизации, затем происходит неуклонное уменьшение их длины

**Рисунок 5**

Распределение длины теломер у новорожденных (n = 74) [18]



стрессовых воздействий скорость зависимо от возраста укорочения теломер становится более или менее постоянной величиной [16].

В 2015 году *P. Factor-Litvak* и соавт. [17] провели сравнительное исследование длины теломер лейкоцитов 490 новорожденных и их родителей. Были учтены разнообразные социально ориентированные и медицинские данные родителей: возраст, раса, религия, образование, результаты обследования родителей, течение беременности. Измерены длины теломер в лейкоцитах матерей в первом, втором и третьем триместрах беременности, а также в пуповинной крови и образцах крови отцов. Результаты показали, что длина теломер у новорожденных больше (9,50 kb), чем у их матерей (7,92 kb) и отцов (7,70 kb). Новорожденных с более длинными теломерами было больше среди девочек (на 0,144 kb), чем среди мальчиков. Теломеры лейкоцитов афроамериканских матерей были незначительно длиннее (0,34 kb), чем у белых матерей и матерей других рас. Никаких различий между преждевременными родами, низкой массой тела при рождении и образованием родителей выявлено не было. Показан широкий разброс длины теломер у новорожденных детей (рис. 5).

Длина теломер у новорожденных во многом зависит не только от наследственности, но и от ряда факторов, оказывающих воздействие на плод в период внутриутробного развития. В частности, стресс матери во время беременности связан с изменением развития плода и многими неблагоприятными долгосрочными последствиями для здоровья ребенка. Хотя механизмы, лежащие в основе этого эффекта, в настоящее время не ясны, на клеточном уровне возможным медиатором является регулирование длины теломер с помощью теломеразного комплекса. Это играет заметную роль в появлении и прогрессировании ряда заболеваний, а неблагоприятная внутриутробная среда может способствовать преждевременному укорочению теломер у новорожденных. Была обнаружена достоверная отрицательная связь между материнским стрессом и длиной теломер у новорожденных ($\beta = -0,463$; $p = 0,04$). Новорожденные, чьи матери испытывали высокий уровень стресса во время беременности, имели значительно меньшую длину теломер ($6,98 \pm 0,41$ kb) по сравнению с новорожденными матерей с низким уровнем стресса ($8,74 \pm 0,24$ kb; $t = -3,99$; $p = 0,003$) [19].

Существует множество исследований, подтверждающих связь между воздействием неблагоприятных социальных условий, насилия в детском возрасте, питания, состояния здоровья родителей на длину теломер у детей [20–25].

Так, в 2016 году было проведено исследование о воздействия питания детей первых месяцев жизни на длину теломер в дошкольном возрасте. Длину тело-

мер измеряли в лейкоцитах крови при рождении и в возрасте 4 и 5 лет. Использовали данные, включающие массу тела при рождении, характер вскармливания, факторы риска, длину теломер родителей на момент рождения ребенка. Было показано, что длина теломер детей на грудном вскармливании достоверно превышает таковую у детей, находящихся на смешанном или искусственном вскармливании, что в свою очередь влияет на длину теломер в возрасте 4–5 лет и, как полагают авторы, на долгосрочное здоровье [26]. Результаты многочисленных исследований дают возможность предположить, что длина теломер при рождении – это индикатор общей продолжительности жизни, она влияет на качество здоровья на всем ее протяжении и имеет большое значение в современной клинической педиатрической практике [27].

Возможно, быстрое укорочение теломер, наблюдаемое в раннем детском возрасте, отражает качественные различия в клеточном составе гемопоэтических тканей у маленьких детей и взрослых. Пуповинная кровь и кровь новорожденных содержат большее количество незрелых гемопоэтических предшественников, чем кровь взрослого человека [28], – это основа для развития банков пуповинной крови для трансплантации клеток костного мозга. Быстрая потеря теломерной ДНК на ранней стадии жизни может быть вызвана высокой скоростью пролиферации у самых незрелых субпопуляций гемопоэтических предшественников. Согласно этой модели, большое количество клеточных делений, которые необходимы для поддержания гемопоэза на протяжении всей жизни, будет инициироваться из частично дифференцированного пула предшественников, которые уже подверглись значительному количеству циклов укорочения теломер.

Количество публикаций, показывающих корреляцию между эмбриональным развитием и длиной теломер плода, быстро растет, однако точные механизмы, которые ответственны за разнообразные внутриутробные события, длину теломер и скорость ее укорочения на первых годах жизни, а также возникновение заболеваний в старшем возрасте, до сих пор неизвестны и нуждаются в дальнейших исследованиях.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

З.Р. Кагирова <http://orcid.org/0000-0001-9002-7909>

И.А. Дёмина <http://orcid.org/0000-0002-4317-2094>

А.Г. Румянцев <http://orcid.org/0000-0002-1643-5960>

Литература

1. Aubert G., Lansdorp P.M. Telomeres and Aging. *Physiol Rev* 2008; 88: 557–79.
2. de Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev* 2005; 19: 2100–10.
3. Hayflick L., Moorhead P.S. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1961; 253: 585–621.
4. Lansdorp P.M. Self-renewal of stem cells. *Biol Blood Marrow Transplant* 1997; 3(4): 171–8.
5. Oeseburg H., de Boer R.A., van Gilst W.H., van der Harst P. Telomere biology in healthy aging and disease. *Pflugers Arch* 2010; 459: 259–68.
6. Podlevsky J.D., Chen J.J. It all comes together at the ends: telomerase structure, function, and biogenesis. *Mutat Res* 2012; 730: 3–11.
7. Weinrich S.L., Pruzan R., Ma L., Ouellette M., Tesmer V.M., Holt S.E., Bodnar A.G., et al. Reconstitution of human telomerase with the template RNA component hTR and the catalytic protein subunit hTERT. *Nat Genet* 1997; 17: 498–502.
8. Schmidt J.C., Cech T.R. Human telomerase: biogenesis, trafficking, recruitment, and activation. *Genes Dev* 2015; 29: 1095–105.
9. Donate L.E., Blasco M.A. Telomeres in cancer and ageing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2011; 366: 76–84.
10. Verdun R.E., Karlseder J. Replication and protection of telomeres. *Nature* 2007; 447: 924–31.
11. Stewart S.A., Weinberg R.A. Telomeres: cancer to human aging. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2006; 22: 531–57.
12. Gutierrez-Rodriguez F., Santana-Lemos B.A., Scheucher P.S., Alves-Paiva R.M., Calado R.T. Direct Comparison of Flow-FISH and qPCR as Diagnostic Tests for Telomere Length Measurement in Humans. *PlosOne* 2014; 9 (11): 1–9.
13. Aubert G., Hills M., Lansdorp P.M. Telomere length measurement – Caveats and a critical assessment of the available technologies and tools. *Mutation Research* 2012; 730: 59–67.
14. Calado R.T., Young N.S. Telomere maintenance and human bone marrow failure. *Blood* 2008; 111: 4446–55.
15. Frenck R.W., Blackburn E.H., Shannon K.M. The rate of loss of the telomere sequence in human leukocytes varies with age. *Cell Biology* 1998; 95 (10): 5607–10.
16. Takubo K., Izumiyama-N. Shimomura, Honma N., Sawabe M., Aray T., Kato M., Oshimura M., K. Nakamura. The length of telomeres is characteristic of every human personality. *Experimental gerontology* 2002; 37 (4): 523–31.
17. Factor-Litvak P., Susser E., Kezios K., McKeague I., Cark J.D., Hoffman M., Kimura M., Wapner R., Aviv A. Leukocyte Telomere Length in Newborns: Implications for the Role of Telomeres in Human Disease. *Pediatrics* 2016; 137 (4): e20153927.
18. Moreno-Palomo J., Creus A., Marcos R., Herna'ndez A. Genomic Instability in Newborn with Short Telomeres 2014; 9 (3): e91753.
19. Marchetto N.M., Glynn R.A., Ferry M.L., Ostojic M., Wolff S.M., Yao R., Haussmann M.F. Prenatal stress and newborn telomere length. *Am J Obstet Gynecol* 2016; 215 (1): 94.
20. Robles L.T.F., Carroll J.E., Bai S., Reynolds B.M., Esquivel S., Repetti R.L. Emotions and Family Interactions in Childhood: Associations with Leukocyte Telomere. *Psychoneuroendocrinology* 2016; 63: 343–50.
21. Asok A., Bernard K., Roth T.L., Rosen J.B., Dozier M. Parental responsiveness moderates the association between early-life stress and reduced telomere length. *Dev Psychopathol* 2013; 25: 577–85.
22. D'Mello M.J.J., Ross S.A., Briel M., Anand S.S., Gerstein H., Paré G. Association between shortened leukocyte telomere length and cardiometabolic outcomes: Systematic review and meta-analysis. *Circ Cardiovasc Gen* 2015; 8: 82–90.
23. Drury S.S., Mabile E., Brett Z.H., Esteves K., Jones E., Shirtcliff E.A., Theall K.P. The association of telomere length with family violence and disruption. *Pediatrics* 2014; 134: E128–37.
24. Gotlib I.H., LeMoult J., Colich N.L., Foland-Ross L.C., Hallmayer J., Joormann J., Lin J., Wolkowitz O.M. Telomere length and cortisol reactivity in children of depressed mothers. *Mol Psychiatry* 2015; 20: 615–20.
25. Needham B.L., Fernandez J.R., Lin J., Epel E.S., Blackburn E.H. Socioeconomic status and cell aging in children. *Soc Sci Med* 2012; 74: 1948–51.
26. Wojcicki J.M., Heyman M.B., Elwan D., Lin J., Blackburn E., Epel E. Early exclusive breastfeeding is associated with longer telomeres in Latino preschool children. *Am J Clin Nutr* 2016; 104 (2): 397–405.
27. Adams J., Martin-Ruiz C., Pearce M.S., White M., Parker L., von Zglinicki T. No association between socio-economic status and white blood cell telomere length. *Aging Cell* 2007; 6 (1): 125–8.
28. Podestà M., Bruschettini M., Cossu C., Sabatini F., Dagnino M., Romantsik O., Spaggiari G.M., et al. Preterm Cord Blood Contains a Higher Proportion of Immature Hematopoietic Progenitors Compared to Term Samples. *PLoS One* 2015; 10 (9): e0138680.