

ISSN 2413-4023 (Online)
ISSN 1818-8346 (Print)

ONCOGEMATOLOGY

*Опыт селективной
элиминации свободных
легких цепей
иммуноглобулинов
у пациентов
с моноклональными
гаммапатиями*

*Тромботические
осложнения
в онкогематологии*

*Поражение тонкой кишки
при остром миелоидном
лейкозе*

ОНКО ГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

2
2019
Том 14 /
Volume 14

Журнал «Онкогематология» входит в перечень ведущих рецензируемых научных периодических изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук.

Журнал включен в Научную электронную библиотеку и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), имеет импакт-

фактор, зарегистрирован в базе данных Scopus, CrossRef, статьи индексируются с помощью идентификатора цифрового объекта (DOI).

Электронная версия журнала представлена в ведущих российских и мировых электронных библиотеках, в том числе в EBSCO и DOAJ.

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

<http://oncohematology.abvpress.ru>

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР НАПРАВЛЕНИЯ «ДЕТСКАЯ ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ»

Самочатова Елена Владимировна, д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, главный научный сотрудник отдела депрессий кроветворения, миелоидных лейкозов, редких и наследственных болезней ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР НАПРАВЛЕНИЯ «ВЗРОСЛАЯ ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ»

Зейналова Первин Айдыновна, д.м.н., заведующая отделом гематологии и трансплантации костного мозга НИИ клинической онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Афанасьев Борис Владимирович, д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, директор Научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, заведующий кафедрой гематологии, трансфузиологии и трансплантологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

Пушкин Вадим Вадимович, д.м.н., профессор, заместитель главного врача по гематологии ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения г. Москвы», заведующий отделом кооперированных исследований в гематологии/онкологии подростков и взрослых ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ НАПРАВЛЕНИЯ «ДЕТСКАЯ ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ»

Румянцева Юлия Васильевна, д.м.н., заведующая отделом исследования лимфопролиферативных заболеваний ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ НАПРАВЛЕНИЯ «ВЗРОСЛАЯ ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ»

Ларионова Вера Борисовна, д.м.н., профессор, старший научный сотрудник ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

О С Н О В А Н В 2 0 0 5 Г .

Адрес редакции:
115478, Москва,
Каширское шоссе, 24,
стр. 15, НИИ канцерогенеза, 3-й этаж.
Тел./факс: +7 (499) 929-96-19
e-mail: abv@abvpress.ru
www.abvpress.ru

Выпускающий редактор **Н.В. Жукова**
Корректор **Т.Н. Помидуйко**
Дизайн **Е.В. Степанова**
Верстка **Е.А. Прокофьева**

Служба подписки и распространения
И.В. Шургаева, +7 (499) 929-96-19,
base@abvpress.ru
Руководитель проекта
А.Г. Прилепская, +7 (965) 319-10-53,
alla@abvpress.ru

Журнал зарегистрирован
в Федеральной службе по надзору
в сфере связи, информационных технологий
и массовых коммуникаций
ПИ № ФС77-36928 от 21 июля 2009 г.

При полной или частичной
перепечатке материалов ссылка
на журнал «Онкогематология»
обязательна.

Редакция не несет ответственности
за содержание публикуемых
рекламных материалов.

В статьях представлена точка
зрения авторов, которая может
не совпадать с мнением редакции.

ISSN 2413-4023 (Online)
ISSN 1818-8346 (Print)
Онкогематология. 2019. Том 14.
№ 2. 1–88
© ООО «ИД «АБВ-пресс», 2019
Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» — 42167
Отпечатано в типографии
ООО ООО «Медиаколор»
Тираж 3000 экз.

<http://oncohematology.abvpress.ru>

2^{Том 14}
'19

ПОМОЩНИК ОТВЕТСТВЕННОГО СЕКРЕТАРЯ

Петрова Галина Дмитриевна, к.м.н., и.о. заведующего отделения реанимации и интенсивной терапии № 3 (трансплантация костного мозга) отдела гематологии и трансплантации костного мозга ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Алейникова Ольга Витальевна, профессор, член-корреспондент Национальной академии наук Республики Беларусь, директор ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» Минздрава Республики Беларусь, врач-гематолог высшей квалификационной категории (Минск, Республика Беларусь)

Валиев Тимур Теймуразович, д.м.н., старший научный сотрудник отделения гемобластозов НИИ детской онкологии и гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, доцент кафедры детской онкологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (Москва, Россия)

Голенков Анатолий Константинович, д.м.н., профессор, академик РАЕН, руководитель отделения клинической гематологии и иммунотерапии ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. Н.Ф. Владимирского», главный гематолог Московской области (Москва, Россия)

Дубровин Михаил Михайлович, д.м.н., профессор, отдел ядерной медицины Детского исследовательского госпиталя св. Иуды (Мемфис, США)

Карачунский Александр Исаакович, д.м.н., профессор, заместитель генерального директора – директор Института онкологии, радиологии и ядерной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Москва, Россия)

Клясова Галина Александровна, д.м.н., профессор, заведующая лабораторией клинической бактериологии микологии и противомикробной терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (Москва, Россия)

Криволапов Юрий Александрович, д.м.н., профессор, член панели патологов Европейской сети исследования лимфом, член Европейской рабочей группы исследования костного мозга, заведующий патологоанатомическим отделением клинической молекулярной морфологии Клиники им. Э.Э. Эйхвальда ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

Менделеева Лариса Павловна, д.м.н., заместитель генерального директора по науке и инновациям – директор НИИ гематологии и трансплантации костного мозга ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (Москва, Россия)

Минков М.Л., д.м.н., доцент, заведующий Клиникой педиатрии и подростковой медицины с отделением неонатологии больницы Rudolfstiftung (Вена, Австрия)

Мякова Наталья Валерьевна, д.м.н., профессор, заведующая отделением онкогематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Никитин Евгений Александрович, д.м.н., руководитель дневного стационара Городского гематологического центра ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения г. Москвы» (Москва, Россия)

Паровичникова Елена Николаевна, д.м.н., руководитель отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (Москва, Россия)

Пономарев Владимир Борисович, д.м.н., отдел радиологии Мемориального онкологического центра Слоана-Кеттеринга (Нью-Йорк, США)

Рукавицын Олег Анатольевич, д.м.н., профессор, начальник Гематологического центра ФГКУ «Главный военный клинический госпиталь им. Н.Н. Бурденко» Минобороны России, главный гематолог госпиталя (Москва, Россия)

Семенова Анастасия Александровна, к.м.н., старший научный сотрудник ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Снеговой Антон Владимирович, д.м.н., заведующий отделением амбулаторной химиотерапии (дневной стационар) НИИ клинической онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Усс Анатолий Леонидович, д.м.н., профессор, главный гематолог Минздрава Республики Беларусь, член Комитета по трансплантологии Совета Европы и Европейской группы по трансплантации костного мозга, руководитель Республиканского центра гематологии и трансплантации костного мозга (Минск, Республика Беларусь)

Фечина Лариса Геннадиевна, заслуженный врач РФ, заместитель главного врача по онкологии и гематологии ГБУЗ Свердловской области «Областная детская клиническая больница № 1», руководитель Центра детской онкологии и гематологии (Екатеринбург, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Крыжановский Олег Игоревич, к.м.н., руководитель программы лечения злокачественных гематологических заболеваний медицинского онкологического центра «Alta Bates» (Калифорния, США)

Лукина Елена Алексеевна, д.м.н., профессор, руководитель научно-клинического отделения редких заболеваний, ведущий научный сотрудник отделения химиотерапии лейкозов и патологии эритронов ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (Москва, Россия)

Поддубная Ирина Владимировна, д.м.н., профессор, академик РАН, проректор по учебной работе и международному сотрудничеству, заведующая кафедрой онкологии и паллиативной медицины Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования Минздрава России, председатель Российского общества онкогематологов (Москва, Россия)

Россиен Виктор Анатольевич, к.м.н., врач высшей категории, заведующий гематологическим отделением ГБУЗ «Самарская областная клиническая больница им. М.И. Калинина» (Самара, Россия)

Румянцев Александр Григорьевич, д.м.н., профессор, академик РАН, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, главный внештатный детский специалист-гематолог Минздрава России, член правления Союза педиатров (Москва, Россия)

Румянцев Сергей Александрович, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, проректор по стратегическому развитию, заведующий кафедрой онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, заведующий кафедрой трансляционной и регенеративной медицины ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)» Минобрнауки России (Москва, Россия)

Талалаев Александр Гаврилович, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России на базе ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница», главный детский патологоанатом г. Москвы (Москва, Россия)

The journal "Oncohematology" is put on the Higher Attestation Commission (HAC) list of leading peer-reviewed scientific periodicals recommended to publish the basic research results of candidate's and doctor's theses.

The journal is included in the Scientific Electronic Library and the

Russian Science Citation Index (RSCI) and has an impact factor; it is registered in the Scopus database, CrossRef, its papers are indexed with the digital object identifier (DOI).

The journal's electronic version is available in the leading Russian and international electronic libraries, including EBSCO and DOAJ.

ONCOHEMATOLOGY

QUARTERLY PEER-REVIEWED SCIENTIFIC-AND-PRACTICAL JOURNAL

<http://oncohematology.abvpress.ru>

EDITOR-IN-CHIEF OF SECTION "PEDIATRIC ONCOHEMATOLOGY"

Samochatova Elena V., MD, PhD, Professor, Honored Doctor of the Russian Federation, Chief Researcher of Hematopoiesis depressions, myeloid leukemia, rare and hereditary diseases department in Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EDITOR-IN-CHIEF OF SECTION "ADULT ONCOHEMATOLOGY"

Zeynalova Pervin A., MD, Head of the Department of Hematology and Bone Marrow Transplantation at the N.N. Blokhin National Medical Research Oncology Center at the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

DEPUTIES OF EDITOR-IN-CHIEF

Afanasiev Boris V., MD, PhD, Professor, Honored Doctor of the Russian Federation, Director of Raisa Gorbacheva Memorial Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Head of the Department of Hematology, Transfusion and Transplantation at Acad. I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University of Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia)

Ptushkin Vadim V., MD, PhD, Professor, Deputy Chief Physician for hematology of S.P. Botkin City Clinical Hospital, Moscow Healthcare Department; Head of Department of Cooperated Research in Adolescents / Adults Hematology / Oncology Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Health of Russia; Professor of the Oncology, Hematology and Radiotherapy Department, Faculty of Pediatrics in N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EXECUTIVE SECRETARY OF SECTION "PEDIATRIC ONCOHEMATOLOGY"

Rumyantseva Yulia V., MD, PhD, Head of Department of Lymphoproliferative Diseases Studies in Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Health of Russia, Professor of the Oncology, Hematology and Radiotherapy Department, Faculty of Pediatrics in N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EXECUTIVE SECRETARY OF SECTION "ADULT ONCOHEMATOLOGY"

Larionova Vera B., DMSc, professor, senior researcher at the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

FOUNDED IN 2005

2 Vol. 14
'19

Editorial Office:

Research Institute of Carcinogenesis,
Floor 3, 24 Kashirskoye Shosse, Build. 15,
Moscow, 115478.
Tel./Fax: +7 (499) 929-96-19
e-mail: abv@abvpress.ru
www.abvpress.ru

Managing Editor N.V. Zhukova
Proofreader T.N. Pomiluyko
Designer E.V. Stepanova
Maker-up E.A. Prokofyeva

Subscription & Distribution Service

I.V. Shurgaeva, +7 (499) 929-96-19,
base@abvpress.ru
Project Manager
A.G. Prilepskaya, +7 (965) 319-10-53,
alla@abvpress.ru

The journal was registered at the Federal Service for Surveillance of Communications, Information Technologies, and Mass Media (PI No. FS77-36928 dated 21 July 2009).

If materials are reprinted in whole or in part, reference must necessarily be made to the "Onkogematologiya".

The editorial board is not responsible for advertising content.

The authors' point of view given in the articles may not coincide with the opinion of the editorial board.

ISSN 2413-4023 (Online)
ISSN 1818-8346 (Print)
Onkogematologiya. 2019.
Volume 14. No. 2. 1-88
© PH "ABV-Press", 2019

Pressa Rossii catalogue
index: 42167
Printed at the Mediicolor LLC
3,000 copies

<http://oncohematology.abvpress.ru>

ASSISTANT OF EXECUTIVE SECRETARY

Petrova Galina D., MD, PhD, Acting Head of the Intensive Care Unit № 3 (Bone Marrow Transplantation) of Hematology and Bone Marrow Transplantation Department of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD

Aleynikova Olga V., Associate Member of the National Academy of Science of the Republic of Belarus, Professor, Director of Republican Research and Medical Center for Oncology, Hematology and Immunology, Physician of the Highest Qualification Grade (Minsk, Republic of Belarus)

Valiev Timur T., DMSc, senior researcher at the Department of Chemotherapy of Hemoblastoses of the Research Institute of Children's Oncology and Hematology of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; associate professor at the Department of Children's Oncology of the Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Golenkov Anatoly K., MD, PhD, Professor, Academician of Russian Academy of Natural Sciences, Head of Department of Clinical Hematology and Immune Therapy in N.F. Vladimirsky Moscow Region Research Clinical Institute, Chief Hematologist of Moscow Region (Moscow, Russia)

Dobrovinn Mikhail M., MD, PhD, Nuclear Medicine Division, St. Jude Children's Research Hospital (Memphis, USA)

Karachunsky Alexander I., MD, PhD, professor, Deputy General Director – Director of the Institute of Oncology, Radiology and Nuclear Medicine of Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Health of Russia, Professor of the Oncology, Hematology and Radiotherapy Department, Faculty of Pediatrics in N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Klyasova Galina A., DMSc, professor, head of the Laboratory for Clinical Bacteriology, Mycology and Antimicrobial Therapy of the National Hematology Research Center, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Krivolapov Yuri A., MD, PhD, Professor, Member of Pathologists Panel of European Lymphomas Research Group, Member of European Bone Marrow Research Group, Head of Anatomico-Pathological Department of Clinical Molecular Morphology of E.E. Eichwald Clinics, I.I. Mechnikov North-West State Medical University of Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia)

Mendeleva Larisa P., MD, PhD, Deputy General Director for Science and Innovation – Director of the Research Institute of Hematology and Transplantation of National Research Center for Hematology of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Minkov M.L., MD, PhD, Vienna Hospital Association Rudolfstiftung Hospital, Clinic of Pediatrics and Adolescent Medicine with Department for Neonatology (Vienna, Austria)

Myakova Natalya V., MD, PhD, Professor, Head of Oncohematology Department of Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Nikitin Evgeny A., MD, PhD, Head of the Day Hospital in Hematology Center of S.P. Botkin City Clinical Hospital, Moscow Healthcare Department (Moscow, Russia)

Parovichnikova Elena N., MD, PhD, Head of Department of Chemotherapy of Hematological Malignancy, Hematopoiesis Depression and Bone Marrow Transplantation in National Research Center for Hematology of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Ponomarev Vladimir B., MD, PhD, Department of Radiology of Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (New York, USA)

Rukavitsyn Oleg A., MD, PhD, Professor, Head of Hematology Center of N.N. Burdenko General Military Clinical Hospital of Ministry of Defense of Russia, Chief Hematologist of the Hospital (Moscow, Russia)

Semyonova Anastasia A., PhD, senior researcher at the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Snegovoy Anton Vladimirovich, MD, Head of the Department of Outpatient Chemotherapy (day patient facility) at the N.N. Blokhin National Medical Research Oncology Center at the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Uss Anatoly L., MD, PhD, Professor, Chief Hematologist of Ministry of Health of the Republic of Belarus, Member of Transplantology Committee of the Council of Europe and European Bone Marrow Transplantation Group, Head of Republican Center for Hematology and Bone Marrow Transplantation (Minsk, Republic of Belarus)

Fechina Larisa G., Honored Doctor of the Russian Federation, Deputy Chief Physician for Oncology and Hematology of Regional Children's Clinical Hospital No. 1, Head of Center of Children's Oncology and Hematology (Yekaterinburg, Russia)

EDITORIAL COUNCIL

Krijanovski Oleg I., MD, PhD, Director of Malignant Hematology Program "Alta Bates" Summit Medical Center (Berkeley, California, USA)

Lukina Elena A., MD, PhD, Professor, Head of Clinical Research Department of Rare Diseases, Leading Researcher of the Department of Leukemia Chemotherapy and Erythron Pathology in National Research Center for Hematology of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Poddubnaya Irina V., MD, PhD, Professor, Academician of Russian Academy of Sciences, Vice-Rector for Academic Affairs and International Cooperation, Head of Oncology and Palliative Medicine Department of Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of Ministry of Health of Russia, Chairman of the Russian Society of Oncohematology (Moscow, Russia)

Rossiev Viktor A., MD, PhD, Highest Grade Doctor, Head of Hematology Department in M.I. Kalinin Samara Regional Clinical Hospital (Samara, Russia)

Rumyantsev Alexander G., MD, PhD, professor, Academician of Russian Academy of Sciences, General Director of Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Health of Russia; Professor of the Oncology, Hematology and Radiotherapy Department, Faculty of Pediatrics in Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Health of Russia, Chief Pediatric Hematologist of Ministry of Health of Russia, Board Member of the Union of Pediatricians of Russia (Moscow, Russia)

Roumiantsev Sergey A., MD, PhD, Professor, Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, Vice-Rector for Strategic Development, Head of the Oncology, Hematology and Radiotherapy Department, Faculty of Pediatrics in N.I. Pirogov Russian National Research Medical University; Head of Translational and Regenerative Medicine Department of Moscow Institute of Physics and Technology (State University) of Ministry of Education and Science of Russia (Moscow, Russia)

Talalaev Alexander G., MD, PhD, Professor, Head of Pathology Department in N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Health of Russia based in Morozov Children's Municipal Clinical Hospital, Chief Children's Pathologist of Moscow (Moscow, Russia)

ГЕМОБЛАСТОЗЫ: ЛЕЧЕНИЕ

| | |
|---|----|
| <i>Е.Г. Громова, П.А. Зейналова, Н.В. Любимова, Ю.С. Тимофеев, Н.Е. Кушлинский, А.А. Семенова, В.В. Лунин, Ю.И. Ключагина</i> Опыт селективной элиминации свободных легких цепей иммуноглобулинов у пациентов с моноклональными гаммапатиями | 8 |
| <i>В.В. Дмитриев, Н.В. Мигаль, О.И. Быданов, Н.В. Липай, Е.В. Дмитриев</i> Венозные тромбозы у детей, подростков и молодых взрослых с острым лимфобластным лейкозом, получающих программную химиотерапию в Республике Беларусь | 13 |
| <i>Д.С. Морозова, Д.А. Евстратов, П.А. Жарков</i> Рецидивирующее течение тромбозов глубоких вен у детей со злокачественными заболеваниями крови: обзор литературы | 24 |
| <i>С.В. Семочкин</i> Новые ингибиторы протеасомы в терапии множественной миеломы | 29 |

РЕДКИЕ БОЛЕЗНИ

| | |
|--|----|
| <i>И.А. Докшина, А.В. Лянгузов, С.В. Игнатъев, О.Ю. Сергунина, С.Л. Калинина, Е.С. Прокопьев, Д.А. Дьяконов</i> Поражение тонкой кишки при остром миелоидном лейкозе: клинический случай и обзор литературы | 41 |
|--|----|

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ПРАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

| | |
|---|----|
| <i>М.Л. Канаева, И.В. Гальцева, Е.Н. Паровичникова, Ю.О. Давыдова, Т.В. Гапонова, Е.О. Грибанова, Я.Б. Бальжанова, Л.А. Кузьмина, В.В. Троицкая, С.К. Кравченко, Е.Е. Звонков, Л.П. Менделеева, В.Г. Савченко</i> Особенности субпопуляционного состава мобилизованных стволовых кроветворных клеток у больных с опухолями кроветворной системы и доноров: экспрессия антигенов CD38, HLA-DR и CD143 | 48 |
| <i>А.С. Поляков, Я.А. Носков, Ю.В. Никитин, В.В. Тыренко, С.Н. Колюбаева, А.Н. Богданов, В.Н. Семелев, О.Р. Петрова, С.В. Бондарчук, Д.К. Жоголев, А.Д. Золотарёв, А.В. Ковалев, Ю.Е. Пучкова</i> Разработка <i>ex vivo</i> -модели и оценка химиочувствительности бластных клеток в индивидуализации терапии острых миелоидных лейкозов | 59 |
| <i>Т.А. Коваленко, М.А. Пантелеев, А.Н. Свешникова</i> Роль тканевого фактора в метастазировании, неоангиогенезе и гемостазе при онкологических заболеваниях | 70 |

HEMATOLOGIC MALIGNANCIES: TREATMENT

- E.G. Gromova, P.A. Zeynalova, N.V. Lubimova, Yu.S. Timofeev,
N.E. Kushlinskiy, A.A. Semenova, V.V. Lunin, Yu.I. Kluchagina*
**The experience of free light chains of immunoglobulin elimination in patients
with monoclonal gammopathies. 8**
- V.V. Dmitriev., N.V. Migal, O.I. Bydanov, N.V. Lipay, E.V. Dmitriev*
**Venous thrombosis in children, adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukemia
receiving chemotherapy in the Republic of Belarus 13**
- D.S. Morozova, D.A. Evstratov, P.A. Zharkov*
Recurrent deep vein thrombosis in children with malignant blood diseases: literature review 24
- S.V. Semochkin*
New proteasome inhibitors in the management of multiple myeloma 29

RARE DISEASES

- I.A. Dokshina, A.V. Lyanguzov, S.V. Ignatyev, O.Yu. Sergunina,
S.L. Kalinina, E.S. Prokopyev, D.A. Dyakonov*
**Extramedullary lesions of a small intestine in acute myeloid leukemia:
case report and literature review 41**

CURRENT BASIC RESEARCH IN PRACTICAL MEDICINE

- M.L. Kanaeva, I.V. Galtseva, E.N. Parovichnikova, Yu.O. Davydova, T.V. Gaponova,
E.O. Gribanova, Ya.B. Balzhanova, L.A. Kuzmina, V.V. Troitskaya, S.K. Kravchenko,
E.E. Zvonkov, L.P. Mendeleeva, V.G. Savchenko*
**Subpopulations of mobilized hematopoietic stem cells in patients with hematological malignances
and donors: expression of CD38, HLA-DR and CD143 48**
- A.S. Polyakov, Ya.A. Noskov, Yu.V. Nikitin, V.V. Tyrenko, S.N. Kolubaeva,
A.N. Bogdanov, V.N. Semelev, O.R. Petrova, S.V. Bondarchuk, D.K. Zhogolev,
A.D. Zolotarev, A.V. Kovalev, Yu.E. Puchkova*
***Ex vivo*-model design and evaluation of the sensitivity of blast cells to chemotherapy
as a way to personalize the treatment of acute myeloid leukemia 59**
- T.A. Kovalenko, M.A. Pantelev, A.N. Sveshnikova*
The role of tissue factor in metastasising, neoangiogenesis and hemostasis in cancer 70

Опыт селективной элиминации свободных легких цепей иммуноглобулинов у пациентов с моноклональными гаммапатиями

Е.Г. Громова, П.А. Зейналова, Н.В. Любимова, Ю.С. Тимофеев, Н.Е. Кушлинский, А.А. Семенова, В.В. Лунин, Ю.И. Ключагина

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Елена Георгиевна Громова e_gromova05@mail.ru

Цель исследования – оценка эффективности экстракорпорального удаления избытка свободных легких цепей иммуноглобулинов у пациентов с моноклональными гаммапатиями ($n = 12$) в процессе гемодиализа с использованием селективных фильтров.

Материалы и методы. Критерием эффективности лечения являлась динамика концентрации свободных легких цепей в сыворотке крови и диализате.

Результаты и заключение. Применение селективной фильтрации свободных легких цепей позволило выполнить адекватное лекарственное противоопухолевое лечение, предотвратить развитие необратимой почечной недостаточности и гипоальбуминемии.

Ключевые слова: свободные легкие цепи иммуноглобулинов, моноклональная гаммапатия, множественная миелома, лимфома, экстракорпоральная гемокоррекция

Для цитирования: Громова Е.Г., Зейналова П.А., Любимова Н.В. и др. Опыт селективной элиминации свободных легких цепей иммуноглобулинов у пациентов с моноклональными гаммапатиями. Онкогематология 2019;14(2):8–12.

DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-2-8-12

The experience of free light chains of immunoglobulin elimination in patients with monoclonal gammopathies

E.G. Gromova, P.A. Zeynalova, N.V. Lubimova, Yu.S. Timofeev, N.E. Kushlinskiy, A.A. Semenova, V.V. Lunin, Yu.I. Kluchagina

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

The objective of study is to estimate the efficiency of extracorporeal free light chains of immunoglobulin elimination in patients with monoclonal gammopathies ($n = 12$) during hemodialysis using selective filters.

Materials and methods. A blood and dialysate free light chains concentrations change was criterion of efficiency.

Results and conclusion. The selective free light chains filtration give the possibility of an adequate anti-tumor therapy, could prevent the development of irreversible renal failure and hypoalbuminemia.

Key words: free light chains of immunoglobulin, monoclonal gammopathies, multiple myeloma, lymphoma, extracorporeal detoxification

For citation: Gromova E.G., Zeynalova P.A., Lubimova N.V. et al. Experience of selective elimination of immunoglobulin free light chains in patients with monoclonal gammopathies. Onkogematologiya = Oncohematology 2019;14(2):8–12.

Введение

Свободные легкие цепи (СЛЦ) каппа (κ) и лямбда (λ) вырабатываются В-лимфоцитами (в норме до 500 мг/сут) и определяются в сыворотке крови, моче, спинномозговой и синовиальной жидкостях. Легкие цепи (мономерные κ с молекулярной массой 22,5 кДа или димерные λ с молекулярной массой 45 кДа), будучи ковалентно связаны с идентичными тяжелыми цепями, определяющими классы иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM, IgD и IgE), формируют молекулы иммуноглобулина. В отличие от тяжелых цепей более

95 % СЛЦ проходит через гломерулярный фильтр со скоростью экскреции от 1 до 10 мг/сут, что обеспечивает постоянство их концентрации в циркуляторном русле в пределах 22 и 27 мг/л для κ - и λ -СЛЦ соответственно и их нормальным соотношением в сыворотке крови в пределах 0,25–1,65. При повышенной активации В-клеток, в том числе при некоторых вариантах гаммапатий (множественная миелома с продукцией моноклональных протеинов, AL-тип амилоидоза, болезнь отложения легких цепей и др.), наблюдается избыточная секреция избирательно

(или преимущественно) легких цепей без полноценной сборки иммуноглобулинов. При множественной миеломе пролиферация моноклональных плазматических клеток может привести к повышению сывороточных концентраций СЛЦ в тысячи раз и достигать 30 г/сут [1–3], что значительно превышает клиренсовые возможности почек. Преципитация в дистальных отделах почечных канальцев СЛЦ с белком Тамма–Хорсфалла, относящегося к семейству гликопротеиновых иммуноглобулинов, приводит к развитию cast-нефропатии, которая вызывает интерстициальное воспаление и обструктивную острую почечную недостаточность [4]. Почечная недостаточность служит первым и основным клиническим проявлением заболевания у 18–56 % пациентов с множественной миеломой, нередко определяющим возможности адекватной противоопухолевой терапии и прогноз, 10 % больных требуется программный гемодиализ [5, 6]. Восстановление функции почек ассоциировано с достоверным увеличением выживаемости [7].

Показано, что почечное повреждение развивается при уровне 113 мг/л для κ-СЛЦ и 278 мг/л для λ-СЛЦ, что соответствует ежесуточной продукции около 5 г СЛЦ [8]. Некоторые авторы сообщали о возможности восстановления функции почек в случае достижения 50 % снижения концентрации СЛЦ [9, 10]. Однако представлявшаяся логичной прямая экстракорпоральная элиминация из системного кровотока избытка СЛЦ путем плазмообмена не продемонстрировала ожидаемого снижения уровня СЛЦ [11], что может объясняться большим объемом их распределения в других жидкостных средах организма и в тканях с интраваскулярным содержанием СЛЦ в пределах 15–20 % от их общего количества. Удаление 70–90 % объема циркулирующей плазмы в процессе каждой операции плазмообмена не сопровождается значимой элиминацией внутрисосудистого количества СЛЦ, потери же плазменных факторов свертывания с развитием вторичной гипопротеинемии и гипоальбуминемии и угрозой вторичных осложнений неизбежны.

В последние годы внимание клиницистов привлекает возможность экстракорпоральной элиминации СЛЦ посредством гемодиализа, гемофильтрации или гемодиофильтрации с использованием мембран, позволяющих элиминировать вещества с пороговой молекулярной массой до 60 000 Да [12], что минимизирует риск развития ятрогенной гипоальбуминемии и вторичных осложнений, ассоциированных с депротеинизацией пациента.

Цель исследования — оценка эффективности удаления избытка СЛЦ с помощью селективных мембран Emic2 (Fresenius, Германия) в процессе гемодиализа. Критерием эффективности лечения явилась динамика концентрации κ- и λ-СЛЦ в сыворотке крови и диализате у пациентов с моноклональными гаммапатиями до и в процессе лечения.

Материалы и методы

Экстракорпоральная гемокоррекция выполнена 12 пациентам, 9 из них с множественной миеломой, 2 — с диффузной В-крупноклеточной лимфомой и 1 — с болезнью Вальденстрема. Вне зависимости от наличия азотемии предельно допустимым сывороточным уровнем СЛЦ, определяющим показания для начала гемодиализа с применением селективной фильтрации, принимали 500 мг/л и выше на основании результатов предыдущих исследований [13].

Гемодиализ выполняли на оборудовании Fresenius (Германия), использовали стационарный (4008) либо мобильный (Multifiltrat) вариант. Применяли полисульфоновые фильтры Emic2 (Fresenius, Германия) с площадью поверхности мембраны 1,8 м² и способностью фильтрации веществ с молекулярной массой до 60 000 Да (благодаря размеру пор). Сосудистый доступ обеспечивали установленным в бедренную или подключичную вену перфузионным катетером. Скорость кровотока в процессе гемодиализа составляла от 200 до 250 мл/мин, продолжительность каждой процедуры варьировала от 4 до 6 ч. Управляемую гипокоагуляцию нефракционированным гепарином рассчитывали в индивидуальном режиме в зависимости от показателей коагулограммы. Всем больным в период экстракорпоральной детоксикации проводили противоопухолевую терапию в соответствии с принятыми стандартами без изменений схем и редукции доз лекарственных средств. В целях предотвращения фильтрационных потерь и сохранения должной концентрации лекарственных средств их введение осуществляли после завершения процедуры гемодиализа. Непосредственных и отдаленных осложнений в связи с гемодиализом не отмечено.

Концентрацию κ- и λ-СЛЦ (мг/л) определяли в сыворотке крови иммунотурбидиметрическим методом на автоматическом биохимическом анализаторе Advia 1800 с использованием тест-систем Freelite Human Lambda и Freelite Human Kappa (Binding Site, Великобритания). Результаты, выходящие за технические пределы метода, были получены путем многократных последовательных разведений в соответствии с программами. Расчет массы элиминированных СЛЦ проводили с учетом индивидуальных значений объема циркулирующей крови. Диагностику парапротеинемии выполняли методом электрофореза с иммунофиксацией (Hydrasys, Sebia, США) при использовании специфических антисывороток к основным типам тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов.

Статистический анализ данных проводили с помощью программы Statistica 7 (Statsoft, США). Анализ различий осуществляли с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При электрофоретическом исследовании с иммунофиксацией у всех пациентов выявляли парапротеинемии различных типов. У 2 пациентов обнаружена парапротеинемия G κ , у 4 – G λ , у 2 – M κ и по 1 случаю – парапротеинемия A λ , парапротеинемия Бенс-Джонса типа κ , биклональная секреция G κ и A κ , а также парапротеинемия M κ , сочетанная с парапротеинемией Бенс-Джонса типа κ . При этом уровень парапротеинемии при первичном обследовании колебался от 1,6 до 78,8 г/л.

У 6 пациентов наблюдали выраженное повышение секреции κ -СЛЦ и у 6 – λ -СЛЦ, которые обозначаются как вовлеченные цепи. Вовлеченным считается тип СЛЦ, секретирующийся патологическим клоном клеток, что подтверждали результатами проведенного нами электрофоретического исследования сыворотки крови и суточной мочи. Уровни вовлеченных СЛЦ при первичном обследовании колебались в интервале от 212 до 74900 мг/л для κ -СЛЦ и от 575 до 34784 мг/л для λ -СЛЦ. Наиболее высокие значения κ - и λ -СЛЦ имели место при множественной миеломе. У больных неходжкинскими лимфомами отмечена гиперсекреция κ -СЛЦ (212 и 1205 мг/л). У всех обследованных пациентов наблюдали протеинурию от 0,16 до 18,7 г/сут, при этом в 9 случаях выявляли экскрецию белка Бенс-Джонса от 0,04 до 14,2 г/сут.

У 10 пациентов отмечали почечную недостаточность с уровнем креатинина от 263 до 764 мкмоль/л и гиперсекрецией κ -СЛЦ от 212 до 74904 мг/л и λ -СЛЦ от 575 до 34784 мг/л. У 2 пациентов с нормальными показателями мочевины и креатинина решение о необходимости проведения экстракорпоральной гемокоррекции принимали на основании высоких уровней СЛЦ, значительно превышающих максимально допустимые значения и требующих их снижения в целях предотвращения вторичных осложнений.

Проведенный анализ результатов определения СЛЦ в сыворотке крови пациентов до начала лечения показал достоверное превышение уровней κ - или λ -СЛЦ относительно общепринятой нормы (κ -СЛЦ 3–21,5 мг/л и λ -СЛЦ 5–27 мг/л) при соотношении κ/λ -СЛЦ 0,25–1,65 [1, 2]. Медианы СЛЦ в целом по группе составили 351 мг/л для κ -СЛЦ и 71,5 мг/л для λ -СЛЦ.

В процессе одной процедуры экстракорпоральной детоксикации удавалось удалить от 250 до 196000 мг СЛЦ. Максимальное количество СЛЦ, которое удавалось элиминировать в ходе всего курса экстракорпоральной детоксикации (18 сеансов), достигало 1090 г. В зависимости от клинических и лабораторных показателей пациентам проводили от 5 до 18 процедур с использованием селективных фильтров E τ ic2. Клиническую переносимость операций экстракорпоральной детоксикации у всех пациентов расценивали как удовлетворительную и гемодинамически

стабильную, травмы форменных элементов крови и потерь сывороточного альбумина в процессе экстракорпорального лечения не отмечено. Адекватную противоопухолевую терапию без редукции доз лекарственных средств удалось провести 11 пациентам. На фоне терапии у 9 пациентов с почечной недостаточностью был зафиксирован почечный ответ. У 10 пациентов на фоне сочетанной терапии отмечалось клинически значимое снижение концентрации СЛЦ. У 1 пациента с первично-рефрактерной множественной миеломой, осложненной амилоидозом, попытка противоопухолевого лечения в сочетании с экстракорпоральной детоксикацией была неэффективной.

Ниже представлено клиническое наблюдение по эффективной гемокоррекции на фоне комплексного лечения.

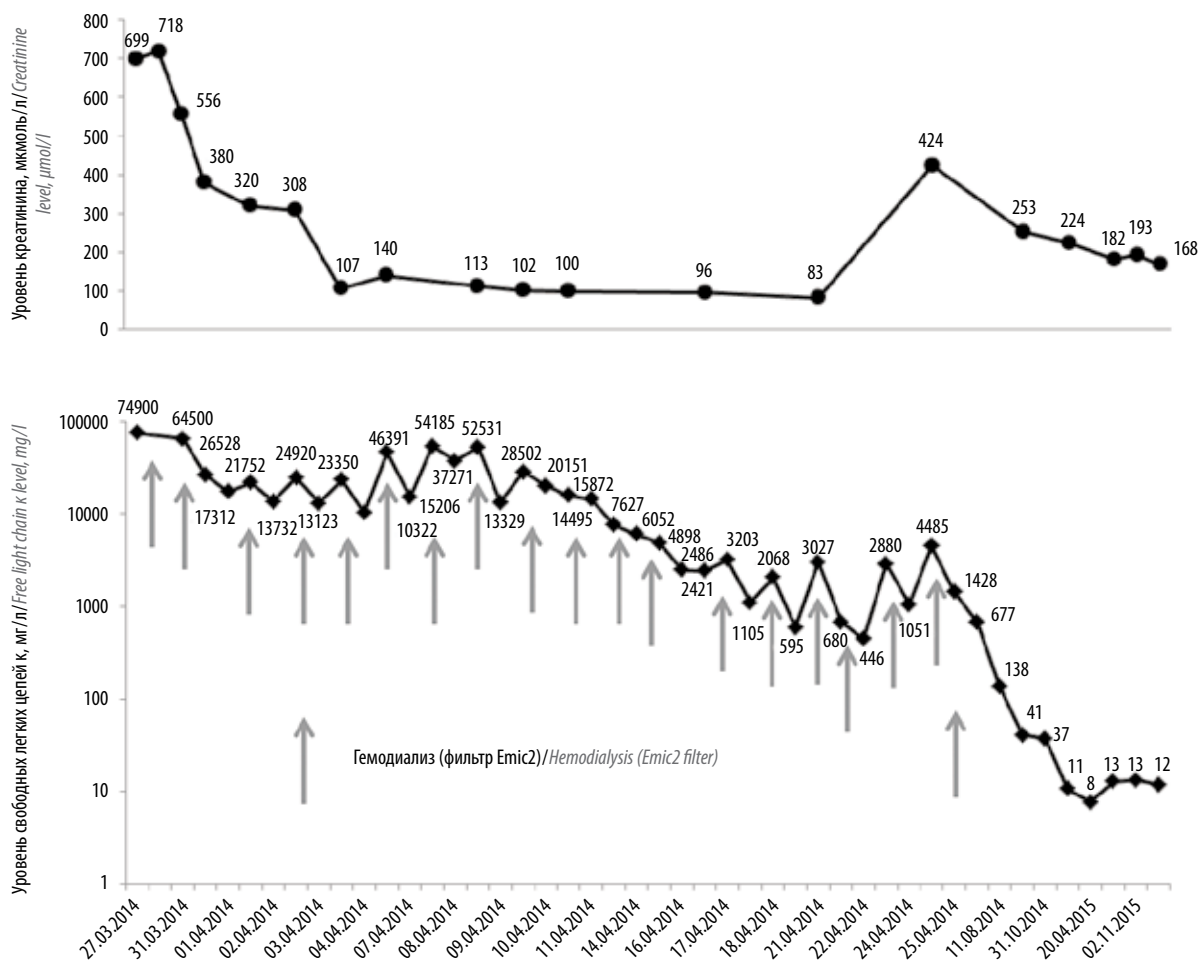
Клинический случай

Пациентка Ш., 46 лет, диагноз при поступлении: множественная миелома с секрецией IgM типа κ , протеинурией Бенс-Джонса, распространенным остеодеструктивным процессом, мягкотканым компонентом в области I ребра справа, стадия IIIВ.

При биохимическом исследовании крови у пациентки выявлена уремия (уровни мочевины 16,7 ммоль/л, креатинина 642 мкмоль/л), клиренс креатинина составил 6 мл/мин, что соответствует диализзависимой стадии острого почечного повреждения. Результаты иммунохимического исследования сыворотки крови при поступлении показали наличие моноклонального белка M κ и белка Бенс-Джонса типа κ (11,6 г/л суммарно), значительное повышение β 2-микроглобулина (31,9 мг/л). Кроме этого, отмечалась выраженная гиперсекреция κ -СЛЦ – 74900 мг/л при λ -СЛЦ 8,24 мг/л (соотношение κ/λ -СЛЦ 9090). При исследовании суточной мочи выявлен белок Бенс-Джонса типа κ – 3,8 г/сут.

Началу специфической противоопухолевой терапии предшествовала экстракорпоральная гемокоррекция, направленная на снижение СЛЦ и уремии. Затем пациентке была начата полихимиотерапия, включавшая бортезомиб, циклофосфамид, глюкокортикоиды, которая проводилась одновременно с заместительной почечной терапией. Всего было выполнено 5 курсов индукции и 49 сеансов экстракорпоральной детоксикации, из них 18 с использованием селективных фильтров E τ ic2.

После окончания сеансов гемодиафильтрации с использованием селективных фильтров E τ ic2 концентрация κ -СЛЦ снизилась до 677 мг/л при нормальном уровне λ -СЛЦ (10,8 мг/л); соотношение κ/λ -СЛЦ составило 62,8. Отмечен почечный ответ, уровень креатинина сыворотки снизился до 256 мкмоль/л, клиренс креатинина составил 23,8 мл/мин. После завершения индукционной противоопухолевой терапии получена частичная ремиссия. По данным иммунохимического исследования белков сыворотки крови и мочи сохранялась следовая секреция парапротеина M (0,21 г/л) в сыворотке крови, секреция λ -СЛЦ составила 40,9 мг/л



Динамика лабораторных показателей (концентрация креатинина и свободных легких цепей к в сыворотке крови) у пациентки Ш. в процессе экстракорпоральной гемокоррекции

Laboratory data change (blood concentration of creatinine and free light chains) in patient Ch. during extracorporeal detoxification

(при сниженной секреции к-СЛЦ 1,5 мг/л), соотношение к/λ-СЛЦ – 27,3 (см. рисунок). Достигнуто снижение протеинурии до 0,4 г/сут при отсутствии белка Бенс-Джонса.

С учетом молодого возраста больной и чувствительности к проведенной противоопухолевой терапии была проведена высокодозная химиотерапия (ВДХТ) с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). После стимуляции гемопоэза гранулоцитарным колониестимулирующим фактором выполнен сбор мононуклеаров CD34+ в количестве, достаточном для проведения 2 курсов ВДХТ с трансплантацией аутологичных ГСК. Больной была выполнена ВДХТ с использованием препарата мелфалан (120 мг/м²) с последующей трансплантацией аутологичных ГСК. Посттрансплантационный период протекал без существенных осложнений, пациентка была выписана в удовлетворительном состоянии с консервативно курательной хронической почечной недостаточностью II–III стадии.

При обследовании после ВДХТ с трансплантацией аутологичных ГСК у пациентки установлена полная ремиссия с нормализацией всех иммунохимических показателей. Полная ремиссия сохраняется в течение 1,5 года.

Заключение

Больным моноклональными гаммапатиями и с высокой продукцией СЛЦ целесообразно проведение экстракорпоральной детоксикации в целях прямого удаления из кровотока избытка СЛЦ вне зависимости от наличия и степени выраженности почечной недостаточности.

Применение фильтра Emic2 позволяет выполнить селективную элиминацию СЛЦ без потерь альбумина.

Быстрое снижение или удаление СЛЦ в ходе селективной экстракорпоральной элиминации может предотвратить развитие необратимой почечной недостаточности и дать возможность проведения адекватной противоопухолевой терапии.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Любимова Н.В., Турко Т.А., Вотякова О.М., Кушлинский Н.Е. Свободные легкие цепи иммуноглобулинов в сыворотке крови больных моноклональными гаммапатиями. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2012;153(2):217–22. [Lubimova N.V., Turko T.A., Votyakova O.M., Kushlinskiy N.E. Serum immunoglobulin free light chains in patients with monoclonal gammopathies. Bulletin eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine 2012;153(2):217–22. (In Russ.)].
2. Турко Т.А., Любимова Н.В., Агеева Т.В., Вотякова О.М. Свободные легкие цепи иммуноглобулинов при множественной миеломе. Клиническая лабораторная диагностика 2010;(9):29. [Turko T.A., Lubimova N.V., Ageeva T.V., Votyakova O.M. Free light chains of immunoglobulins in the diagnosis and prognosis of multiple myeloma. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics 2010;(9):29. (In Russ.)].
3. Hutchison C.A., Cockwell P., Reid K. et al. Efficient removal of immunoglobulin free light chains by hemodialysis for multiple myeloma: *in vitro* and *in vivo* studies. J Am Soc Nephrol 2007;18(3):886–95. DOI: 10.1681/ASN.2006080821.
4. Iggo N., Winearls C.G., Davies D.R. The development of cast-nephropathy in multiple myeloma. QJM 1997;90(11):653–6.
5. Knudsen L.M., Hjorth M., Hippe E. Renal failure in multiple myeloma: reversibility and impact on prognosis. Eur J Haematol 2000;65(3):175–81.
6. Kyle R.A., Gertz M.A., Witzig T.E. et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. Mayo Clin Proc 2003;78(1):21–33. DOI: 10.4065/78.1.21.
7. Sakhija V., Jha V., Varma S. et al. Renal involvement in multiple myeloma: a 10-year study. Renal Failure 2000;22(4):465–77.
8. Nowrousian M.R., Brandhorst D., Sammet C. et al. Serum free light chain analysis and urine immunofixation electrophoresis in patients with multiple myeloma. Clin Cancer Res 2005;11:8706–14. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0486.
9. Leung N., Gertz M.A., Zeldenzust S.R. et al. Improvement of cast-nephropathy with plasma exchange depends on the diagnosis and on reduction of serum free light chains. Kidney Int 2008;73(11):1282–8. DOI: 10.1038/ki.2008.108.
10. Zucchelli P., Pasquali S., Cagnoli L., Ferrari G. Controlled plasma exchange trial in acute renal failure due to multiple myeloma. Kidney Int 1988;33(6):1175–80.
11. Clark W.F., Stewart A.K., Rock G.A. et al. Plasma exchange when myeloma presents as acute renal failure: A randomized controlled trial. Ann Intern Med 2005;143(11):777–84.
12. Kleeberg L., Morgera S., Jakob C. et al. Novel renal replacement strategies for the elimination Of serum free light chains in patients with kappa light chain nephropathy. Eur J Med Res 2009;14:47–54.
13. Rajkumar S.V., Dimopoulos M.A., Palumbo A. et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. Lancet Oncol 2014;15(12):538–48. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5.

Вклад авторов

Е.Г. Громова: разработка общего дизайна исследования, написание текста, обзор публикаций по теме статьи;
 П.А. Зейналова: разработка дизайна клинического исследования, написание текста, обзор публикаций по теме статьи;
 Н.В. Любимова: разработка дизайна лабораторного исследования, написание текста, обзор публикаций по теме статьи;
 Ю.С. Тимофеев: получение данных для анализа, анализ полученных данных, статистический анализ данных, обзор публикаций по теме статьи;
 Н.Е. Кушлинский: разработка общего дизайна исследования;
 А.А. Семенова: получение данных для анализа, анализ полученных данных;
 В.В. Лунин: получение данных для анализа;
 Ю.И. Ключагина: курация включенных в исследование пациентов, обзор публикаций по теме статьи.

Authors' contributions

E.G. Gromova: general study design development, article writing, reviewing of publications on the article's topic;
 P.A. Zeynalova: clinical study design development, article writing, reviewing of publications on the article's topic;
 N.V. Lubimova: laboratory study design development, article writing, reviewing of publications on the article's topic;
 Yu.S. Timofeev: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, analysis of the statistical data, reviewing of publications on the article's topic;
 N.E. Kushlinskiy: general study design development;
 A.A. Semenova: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data;
 V.V. Lunin: obtaining data for analysis;
 Yu.I. Kluchagina: patients included in the study curation, reviewing of publications on the article's topic.

ORCID авторов/ORCID of authors

Е.Г. Громова/E.G. Gromova: <https://orcid.org/0000-0002-4633-8301>
 Н.Е. Кушлинский/N.E. Kushlinskiy: <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.
Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 08.04.2019. **Принята к публикации:** 22.05.2019.
Article received: 08.04.2019. **Accepted for publication:** 22.05.2019.

Венозные тромбозы у детей, подростков и молодых взрослых с острым лимфобластным лейкозом, получающих программную химиотерапию в Республике Беларусь

В.В. Дмитриев, Н.В. Мигаль, О.И. Быданов, Н.В. Липай, Е.В. Дмитриев

ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» Минздрава Республики Беларусь; Республика Беларусь, 223053 Минский район, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43

Контакты: Вячеслав Васильевич Дмитриев dmitrievhaematol@mail.ru

Цель исследования – уточнить условия возникновения тромбозов и оценить влияние антикоагулянтной терапии на выживаемость и исход тромбоза у детей, подростков и молодых взрослых с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), получающих программную химиотерапию.

Материалы и методы. В исследование включены 592 пациента, получавших терапию по поводу ОЛЛ в РНПЦ ДОГИ (Минск, Беларусь) с 2008 по 2017 г. Из них у 42 пациентов на различных этапах терапии зарегистрировано развитие венозного тромбоза различной локализации.

Результаты. Кумулятивная частота выявления тромбоза составила $7,5 \pm 1,1$ %. Применение пегелированной аспарагиназы (PEG-asp) в дозе 1000 МЕ/м² на этапе индукционной терапии увеличило относительный риск возникновения тромбоза в первые 5 нед лечения в 3 раза (относительный риск 3,4; 95 % доверительный интервал 0,98–11,9) по сравнению с пациентами, не получавшими PEG-asp. Кумулятивная частота выявления тромбозов у пациентов с режимом постиндукционной L-аспарагиназы (L-asp) в дозе 25 000 МЕ/м² составила $14,7 \pm 2,6$ %, что было выше ($p = 0,0536$), чем при использовании L-asp в других режимах дозирования. Кроме ОЛЛ как основного заболевания, приема химиопрепаратов, другие факторы риска развития тромбоза (тромбофилия, наличие антифосфолипидных антител, снижение активности естественных антикоагулянтов) в различном сочетании были у половины (23 из 42) пациентов с венозным тромбозом. Терапевтическую дозу низкомолекулярных гепаринов (НМГ) 150–200 МЕ/кг получали 30 пациентов. На период тромбоцитопении от 100 до 35×10^9 /л продолжительностью до 4 нед редуцированную суточную дозу НМГ получали 12 пациентов. Редукция дозы НМГ проводилась пропорционально содержанию тромбоцитов в крови. После восстановления содержания тромбоцитов более 100×10^9 /л пациенты продолжали лечение НМГ в суточной дозе 150–200 анти-Ха МЕ/кг. Редукция дозы НМГ на этапе химиоиндуцированной тромбоцитопении не повлияло на исход тромбоза ($\chi^2 = 0,494$; $p = 0,78$). Завершили поддерживающую терапию 38 из 42 пациентов с тромбозом, бессобытийная выживаемость составила $83,0 \pm 8,0$ %, что не отличалось ($p = 0,654$) от таковой у пациентов без тромбозов ($81,0 \pm 2,0$ %).

Заключение. Наличие венозного тромбоза на фоне предлагаемой схемы противотромботической терапии с применением НМГ не привело к снижению бессобытийной выживаемости пациентов с ОЛЛ по сравнению с пациентами, не имевшими тромбозов. Редукция терапевтической дозы НМГ не повлияло на исход тромбоза в анализируемых группах.

Ключевые слова: венозный тромбоз, острый лимфобластный лейкоз, дети, подростки, молодые взрослые, антикоагулянтная терапия, низкомолекулярный гепарин

Для цитирования: Дмитриев В.В., Мигаль Н.В., Быданов О.И. и др. Венозные тромбозы у детей, подростков и молодых взрослых с острым лимфобластным лейкозом, получающих программную химиотерапию в Республике Беларусь. Онкогематология 2019;14(2):13–23.

DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-2-13-23

Venous thrombosis in children, adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukemia receiving chemotherapy in the Republic of Belarus

V.V. Dmitriev, N.V. Migal, O.I. Bydanov, N.V. Lipay, E.V. Dmitriev
Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology;
43 Frunzenskaya St., Borovlyany, Minsk region 223053, Republic of Belarus

Objective: to clarify the conditions for the occurrence of thrombosis and assess the effect of anticoagulant therapy on the survival and outcome of thrombosis in children, adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukemia (ALL) receiving program chemotherapy.

Materials and methods. The study included 592 patients with ALL received program chemotherapy from 2008 to 2017 in the Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (Minsk, Belarus). Of them, in 42 patients various localization venous thrombosis was detected at different therapy phase.

Results. The cumulative detection rate of thrombosis was 7.5 ± 1.1 %. The use of pegelated asparaginase (PEG-asp) at a dose of 1000 IU/m² in induction therapy increased the relative risk of thrombosis in the first 5 weeks of treatment by 3 times (relative risk 3.4; 95 % confidence

interval 0.98–11.9), compared to patients not receiving PEG-asp. The cumulative detection rate of thrombosis in patients with the post-induction L-asparaginase (L-asp) 25,000 IU/m² regimen was 14.7 ± 2.6 %, which was higher ($p = 0.0536$) than when using L-asp in other dosing regimens. In addition to ALL as the main disease, taking chemotherapy drugs, other risk factors for thrombosis (thrombophilia, the presence of antiphospholipid antibodies, a decrease of natural anticoagulants activity) in various combinations were in half (23 of 42) patients with venous thrombosis. Therapeutic dose of low molecular weight heparins (LMWH) 150–200 IU/kg received 30 patients. Reduced for the period of thrombocytopenia from 100 to 35 × 10⁹/L for up to 4 weeks, a daily dose of LMWH was received by 12 patients. The dose of LMWH was reduced in proportion to the blood platelets count. After the recovery of the platelet count of more than 100 × 10⁹/L, patients continued treatment of LMWH in a daily dose of 150–200 anti-Xa IU/kg. Reducing of LMWH dose during thrombocytopenia period did not affect the outcome of thrombosis ($\chi^2 = 0.494$; $p = 0.78$). Among 42 patients with thrombosis, 38 completed maintenance therapy, event-free survival was 83.0 ± 8.0%, which did not differ ($p = 0.654$) from that (81.0 ± 2.0 %) in patients without thrombosis.

Conclusion. The presence of venous thrombosis with the use of LMWH as antithrombotic therapy did not lead to a decrease in the event-free survival of ALL patients, compared with those without thrombosis. Reducing the therapeutic dose of LMWH did not affect the outcome of thrombosis in the analyzed groups.

Key words: venous thrombosis, acute lymphoblastic leukemia, children, adolescents, young adults, anticoagulant therapy, low molecular weight heparin

For citation: Dmitriev V.V., Migal N.V., Bydanov O.I. et al. Venous thrombosis in children, adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukemia receiving chemotherapy in the Republic of Belarus. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2019;14(2):13–23.

Введение

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) – наиболее распространенное злокачественное заболевание, на долю которого у детей приходится до 30 % всех злокачественных опухолей и до 75 % гемобластозов [1, 2]. Переход на протокольное лечение с учетом типа заболевания, группы риска, снижение токсичности химиотерапии и профилактика осложнений способствовали повышению общей 5-летней выживаемости до 85 %, а для пациентов из группы низкого риска – 5-летней бессобытийной выживаемости до 93 % [1, 3]. Частота возникновения тромботических осложнений среди детей и подростков с ОЛЛ составляет от 1,8 до 15,0 % (в среднем 6 %) [4–6], а в возрасте старше 15 лет – 21 % [6]. Большая часть тромбозов (83 %) выявлена исследователями во время индукционной терапии с использованием различных цитостатических препаратов, в том числе лекарственных средств, содержащих L-аспарагиназу (L-asp) [6–8]. Ассоциированные с введением аспарагиназы гипофибриногемия, гипопротромбинемия [9, 10] и тромбоцитопения в сочетании со снижением содержания (активности) протеина С, протеина S, антитромбина III [11] способствуют развитию как тромбозов [12], так и геморрагических осложнений [9]. Одним из резервов улучшения результатов сопроводительного лечения являются рациональный подход к коррекции нарушений свертывания крови, связанных с применением L-asp, и антикоагулянтная терапия по поводу тромбозов в условиях химиоиндуцированной тромбоцитопении и гипокоагуляционных нарушений. Рекомендации по использованию антикоагулянтов у детей в значительной степени экстраполированы из результатов рандомизированных контролируемых исследований, проведенных для взрослых пациентов [13], или базируются на мнении авторитетных экспертов [14, 15]. Длительность

антикоагулянтной терапии, выбор дозы низкомолекулярного гепарина (НМГ) с учетом химиоиндуцированной тромбоцитопении у взрослых и детей отражены в единичных сообщениях.

Цель исследования – уточнить условия возникновения тромбозов и оценить влияние антикоагулянтной терапии на выживаемость и исход тромбоза у детей, подростков и молодых взрослых с ОЛЛ на протоколах ALL-МВ-2008 и ALL-МВ-2015.

Материалы и методы

С 2008 по 2017 г. были пролечены 592 пациента с ОЛЛ (*de novo*), получивших интенсивную полихимиотерапию на базе РНПЦ ДОГИ (Минск, Беларусь). Распределение пациентов по возрасту: от 1 года до 17 лет 11 мес и 29 дней – 528 детей, с 18 лет до 29 лет 11 мес и 29 дней – 64 молодых взрослых. Из 592 пациентов с ОЛЛ лечение 42 было осложнено развитием венозного тромбоза различной локализации. Венозный тромбоз выявлен в возрастной группе до 10 лет у 17 пациентов, 10–15 лет – у 8, 15–18 лет – у 5, 18–29 лет – у 12 (табл. 1).

Тромбоз зарегистрирован на этапе индукционной терапии у 16 (38,1 %) пациентов, консолидации I – у 10 (23,8 %), консолидации II – у 4 (9,5 %), консолидации III – у 6 (14,3 %), на других этапах лечения (блоки) для пациентов из группы высокого риска – у 6 (14,3 %) пациентов. На этапе поддерживающей терапии тромбозов не выявлено. У 2 из 42 пациентов с венозными тромбозами после завершения лечения ОЛЛ и отмены антикоагулянтной терапии на этапе диагностики и лечения очень раннего/раннего рецидива возник новый катетерассоциированный тромбоз иной локализации. Из 44 случаев катетерассоциированный тромбоз вен выявлен в 29 (65,9 %) наблюдениях: тромбоз подключичной вены имели 11 пациентов (слева – 4, справа – 7), внутренней яремной вены – 8 (слева – 2,

Таблица 1. Возрастная структура обследованных пациентов (n = 592)

Table 1. Age structure of the examined patients (n = 592)

| Характеристика Characteristic | Пациенты с тромбозом (n = 42), n (%) Patients with thrombosis (n = 42), n (%) | | Пациенты без тромбоза (n = 550), n (%) Patients without thrombosis (n = 550), n (%) | | Скорректированная поправка Йетса χ^2 ; p Yates corrected χ^2 ; p |
|----------------------------------|---|------|---|------|--|
| Пол: Gender: | | | | | |
| мужской male | 28 (66,7) | | 312 (56,7) | | 1,2; 0,27 |
| женский female | 14 (33,3) | | 238 (43,3) | | 1,2; 0,27 |
| Возраст, лет: Age, years | | | | | |
| <3 | 6 | 14,2 | 125 | 22,7 | 1,16; 0,28 |
| ≥3<7 | 9 | 21,4 | 216 | 39,3 | 9,8; 0,002 |
| ≥7<10 | 2 | 4,7 | 61 | 11,1 | 1,04; 0,307 |
| <10 | 17 | 40,5 | 402 | 73,1 | 18,5; 0,0001 |
| ≥10<15 | 8 | 19,0 | 69 | 12,5 | 0,94; 0,23 |
| ≥15<18 | 5 | 11,9 | 27 | 4,9 | 2,49; 0,14 |
| ≥18 | 12 | 18,6 | 52 | 9,4 | 12,9; 0,0003 |

справа – 6), глубоких вен правой руки – 1, бедренной вены – 2, бедренной вены с распространением до наружной подвздошной вены – 7 (слева – 3, справа – 4). Тромбоз венозных синусов выявлен методом магнитно-резонансной ангиографии у 8 пациентов в связи с прогрессированием общемозговой симптоматики: в первые 5 нед индукционной терапии – у 6 (2 детей и 4 молодых взрослых), с 6 по 12-ю неделю – у 2 (1 ребенок и 1 молодой взрослый пациент). Вне связи с попыткой катетеризации вен илеофemorальный тромбоз имели 2 пациента, тромбоз глубоких вен ног – 4, поверхностных вен ног – 1 ребенок.

Наличие венозного тромбоза верифицировали при первом появлении клинических симптомов (отек, ограничение движений из-за боли в заинтересованной зоне, изменение окраски кожи, болезненность и повышение температуры кожи при пальпации по ходу вены) путем проведения диагностического ультразвукового исследования [16]. Для визуализации магистральных вен применяли широкополосные линейные датчики высокого разрешения в комплекте со сканерами Logiq500, Logiq9 (GEMS, США). Объем ультразвукового исследования включал дуплексное сканирование нижней полой вены и ее ветвей, магистрального поверхностного и глубокого венозного русла конечностей, югулярных вен. Основными диагностическими критериями тромботического поражения участка венозного русла для большинства пациентов были наличие обтурирующих просвет сосуда гипо-/изоэхогенных тканевых масс, отсутствие либо неполная реакция на компрессию, отсутствие кровотока в режимах цветового доплеровского картирования. Неокклюзивный тромбоз проявлялся наличием относительно однородных тромбомасс, которые частично не соприкасались со стенками пораженной вены. Тромботиче-

ская окклюзия вен характеризовалась обтурацией вены гипоэхогенными или среднеэхогенными массами, акустическая плотность и эхоструктура которых зависела от давности процесса.

Пациенты за анализируемый период времени получали полихимиотерапию по нескольким протоколам: с апреля 2008 г. по октябрь 2014 г. – ALL-MB-2008, с ноября 2014 г. по 2017 г. – ALL-MB-2015 (табл. 2). Молодым взрослым с ОЛЛ проводили терапию по протоколу ALL-MB-2008 по ветви либо для группы промежуточного риска, либо для группы высокого риска.

Во всех протоколах как на этапе индукционной терапии, так и на этапах консолидации использовали лекарственные средства, содержащие L-asp: *Escherichia coli* L-asp (L-asp. coli) Medac производства mbH (Ведель, Германия) и пегилированную аспарагиназу (PEG-asp) Medac Oncaspar производства mbH (Гамбург, Германия). На протоколах кооперативной исследовательской группы по изучению ОЛЛ у детей и подростков использовали следующие комбинации: на этапе индукции – PEG-asp только на 3-й день от начала терапии в дозе 1000 МЕ/м² в течение 1 ч (у молодых взрослых обязательно) на фоне перорального приема дексаметазона в дозе 6 мг/м² в течение 36 дней; на этапах консолидации – L-asp. coli в дозе 10000 МЕ/м² или 5000 МЕ/м² внутримышечно ежедневно (№ 18) без применения дексаметазона. Для групп высокого риска – препарат L-asp. coli в дозе 25000 МЕ/м². Решение о выборе дозы и формы глюкокортикостероидов, а также лекарственного средства, содержащего L-asp, принимали на основе метода слепой рандомизации только в ходе протокола ALL-MB-2008. На этапе индукционной терапии протокола ALL-MB-2015 PEG-asp является обязательным препаратом (табл. 3).

Таблица 2. Распределение пациентов по протоколам лечения острого лимфобластного лейкоза

Table 2. Distribution of patients according to acute lymphoblastic leukemia treatment protocols

| Протокол исследования Protocols | Всего Total | Пациенты с тромбозами, n (%) Patients with thrombosis, n (%) | Случаи тромбоза Cases of thrombosis |
|--|----------------|---|--|
| ALL-MB 2008 | 351 | 16 (4,6 ± 1,2) | 17 |
| ALL-MB 2008 (старше 18 лет) ALL-MB 2008 (over 18 years old) | 50 | 7 (14,0 ± 3,6) | 7 |
| ALL-MB 2015 | 178 | 19 (10,7 ± 2,3) | 20 |
| ALL-MB 2015 (старше 18 лет) ALL-MB 2015 (over 18 years old) | 13 | 4 (30,7 ± 12,8) | 4 |
| <i>Всего</i> <i>Total</i> | 592 | 42 (7,1 ± 1,0) | 44 |

Таблица 3. Режим введения L-аспарагиназы у пациентов с тромбозами и без них

Table 3. L-asparaginase schedule in patients with and without thrombosis

| Характеристика Characteristic | Пациенты с тромбозом (n = 42), n (%) Patients with thrombosis (n = 42), n (%) | Пациенты без тромбоза (n = 550), n (%) Patients without thrombosis (n = 550), n (%) | Скорректированная поправка Йетса χ^2 ; p Yates corrected χ^2 ; p |
|--|---|---|--|
| + PEG 1000 в индукции + PEG 1000 in induction | 13 (31,0) | 318 (55,2) | 95,3; 0,001 |
| – PEG 1000 в индукции – PEG 1000 in induction | 3 (7,1) | 258 (44,8) | Относительный риск 3,4 (95 % доверительный интервал 0,98–11,9) Relative risk 3.4 (95% confidence interval 0.98–11.9) |
| Постиндукционный режим аспарагиназы <i>Asparaginase in postinduction therapy</i> | | | |
| PEG 1000 МЕ/м ² PEG 1000 U/m ² | 2 (4,8) | 76 (13,8) | 0,8; 0,038 |
| L-asparaginase 5000 МЕ/м ² L-asparaginase 5000 U/m ² | 6 (14,3) | 179 (32,5) | 0,36; 0,54 |
| L-asparaginase 10 000 МЕ/м ² L-asparaginase 10 000 U/m ² | 13 (30,9) | 266 (48,2) | 0,01; 0,97 |
| L-asparaginase 25 000 МЕ/м ² L-asparaginase 25 000 U/m ² | 5 (11,9) | 29 (5,3) | 5,8; 0,01 |
| <i>Всего</i> <i>Total</i> | 42 (100) | 550 (100) | – |
| Группа риска согласно ALL-MB 2008 <i>Risk group according to ALL-MB 2008</i> | | | |
| Группа стандартного риска Standard risk group | 15 (35,7) | 252 (45,8) | 1,23; 0,27 |
| Группа промежуточного риска Intermediate risk group | 19 (45,2) | 258 (47,0) | 0,01; 0,96 |
| Группа высокого риска High risk group | 8 (19,1) | 40 (7,2) | 5,8; 0,01 |
| <i>Всего</i> <i>Total</i> | 42 (100) | 550 (100) | – |

Примечание. PEG – пегилированная; L-aspar – L-аспарагиназа.

Note. PEG – pegylated; L-aspar – L-asparaginase.

Всем пациентам по факту выявления тромбоза в РНПЦ ДОГИ рутинно определяли наличие маркеров тромбофилии: однократно генетический анализ, маркеры антифосфолипидного синдрома и активность естественных антикоагулянов, при необходимости в динамике. Полиморфизм гена фактора II (20210G>A) и гена фактора V (1691G>A, Leiden) выявляли реагентами производства Life Technologies (США, Германия) на амплификаторе Thermocycler T3 (Biometra, Германия) согласно ранее описанным методам [17, 18]. У всех пациентов, включенных в исследование, наличие антикардиолипидных антител (IgG, IgM) и антител к β_2 -гликопротеину I (IgG, IgM) выявляли иммуноферментным анализатором Chorus-Trio оригинальными наборами фирмы Chorus (Италия). Присутствие волчаночного антикоагулянта регистрировали клоттинговым методом путем расчета нормализованного отношения dRVVT Screen/dRVVT confirm с использованием наборов HemosIL на коагулометрах ACL-7000 и ACL-9000 (IL, США). Спектрофотометрическим методом с использованием хромогенных субстратов, входящих в диагностические наборы IL на анализаторах ACL-7000 и ACL-9000, регистрировали активность антитромбина III, протеина С, анти-Ха-активность. Клоттинговым методом на анализаторах ACL-7000 и ACL-9000 регистрировали активность свободного протеина S наборами реагентов ProteinS (IL, США). Подсчет тромбоцитов периферической крови выполняли на автоматическом анализаторе MICROS-60. Контроль свертывания крови осуществляли согласно протоколу лечения.

Все 42 пациента с венозным тромбозом после подписания информированного согласия (протокол противотромботической терапии и информированное согласие утверждены этическим комитетом РНПЦ ДОГИ) получали антикоагулянтную терапию лекарственными средствами, содержащими нефракционированный гепарин или НМГ. Из числа НМГ использовали: далтепарин натрия (Dalteparin sodium), произведенный Vetter Pharma-Fertigung, GmbH & Co. KG (Германия)/Pfizer Manufacturing Belgium N.V. (Бельгия) и надропарин кальция (Nadroparin calcium) производства Aspen Notre Dame de Bondeville (Франция), рекомендованные для противотромботического лечения и зарегистрированные в Республике Беларусь. В остром периоде по факту выявления тромбоза вводили далтепарин натрия путем внутривенного титрования суточной дозы с постоянной скоростью. После стабилизации состояния пациента и прекращения инфузионной терапии продолжали подкожное введение далтепарина натрия или надропарина кальция.

Химиоиндуцированная тромбоцитопения от 100 до $50 \times 10^9/\text{л}$ продолжительностью от 7 до 21 дня (медиана 15 дней) с последующим снижением содержания тромбоцитов в периферической крови от 50 до $35 \times 10^9/\text{л}$ в течение от 4 до 10 дней (медиана 7 дней) зарегистрирована у трети пациентов (12 из 42)

в динамике лечения по поводу тромбоза. В этот период снижение фибриногена менее $0,8$ г/л зарегистрировано у 9 из 12 детей.

Пациентам с тромбозом и тромбоцитопенией точную терапевтическую дозу далтепарина натрия редуцировали при числе тромбоцитов менее $100 \times 10^9/\text{л}$. Нами внесена модификация расчета редуцированной терапевтической дозы далтепарина натрия в случае химиоиндуцированной тромбоцитопении ($100-20$) $\times 10^9/\text{л}$. Суть модификации заключалась в снижении терапевтической дозы далтепарина натрия пропорционально снижению содержания тромбоцитов в периферической крови менее $100 \times 10^9/\text{л}$; например, при числе тромбоцитов $75 \times 10^9/\text{л}$ вводили 75 анти-Ха МЕ/кг, при числе тромбоцитов $40 \times 10^9/\text{л}$ — 40 анти-Ха МЕ/кг. При числе тромбоцитов менее $20 \times 10^9/\text{л}$ (менее $30 \times 10^9/\text{л}$ при наличии признаков синдрома системного воспалительного ответа) прекращали введение НМГ, выполняли трансфузию тромбоцитарной донорской массы. После достижения минимального гемостатического порога для тромбоцитов более $20 \times 10^9/\text{л}$ (более $30 \times 10^9/\text{л}$ при наличии признаков синдрома системного воспалительного ответа) возобновляли введение НМГ в дозе, пропорциональной содержанию тромбоцитов периферической крови. После восстановления числа тромбоцитов более $100 \times 10^9/\text{л}$ продолжали противотромботическое лечение далтепаринном натрия или надропаринном кальция в суточной дозе $150-200$ анти-Ха МЕ/кг согласно инструкции.

Статистический анализ данных осуществляли с помощью программы R-Statistics (версия 3.4. 2). Сравнение в группах по индивидуальным параметрам проводили с использованием χ^2 -критерия с поправкой Йетса. Показатели бессобытийной выживаемости рассчитывали по методу Каплана–Майера, сравнение результатов выполняли с использованием *log-rank*-теста. Кумулятивную частоту тромбозов рассчитывали методом конкурирующих рисков, сравнение результатов проводили с применением критерия Грау. При оценке значимости статистических различий использовали порог значений для $p < 0,05$. Цензурирование наблюдений произведено на 21.09.2017.

Результаты

Венозный тромбоз выявлен у 42 из 592 пациентов, получавших с 2008 по 2017 г. лечение по поводу ОЛЛ на протоколах ALL-MB-2008 и ALL-MB-2015. Кумулятивная частота тромбозов составила $7,5 \pm 1,1$ %. Среди 419 детей в возрасте до 10 лет тромбоз возник у 17 ($4,3 \pm 1,0$ %), среди 173 пациентов в возрасте старше 10 лет — у 25 ($15,1 \pm 2,8$ %) ($p < 0,0001$). Значительно чаще тромбоз был выявлен у пациентов в возрасте старше 15 лет. Среди 496 детей в возрасте до 15 лет тромбоз возник у 25 ($5,4 \pm 1,1$ %), среди 96 пациентов в возрасте старше 15 лет — у 17 ($18,6 \pm 4,1$ %) ($p < 0,0001$). Наибольшая частота

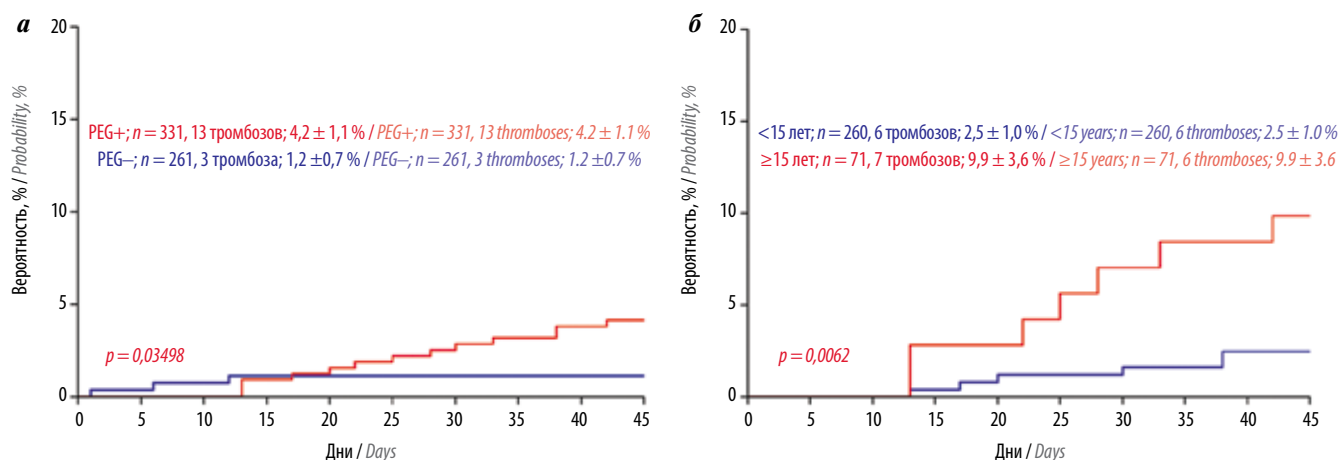


Рис. 1. Кумулятивная частота возникновения тромбозов на этапе индукционной терапии: а – в зависимости от индукционного применения пегилированной (PEG) аспарагиназы; б – у пациентов, получавших PEG-аспарагиназу в зависимости от возраста
Fig. 1. Cumulative incidence of thrombosis in induction therapy: а – according to pegylated (PEG) asparaginase in induction; б – in patients receiving PEG-asparaginase according to age

возникновения тромбоза отмечена у молодых взрослых пациентов. В возрасте старше 18 лет из 64 пациентов тромбоз выявлен у 12 ($19,7 \pm 5,1$ %) по сравнению ($p = 0,0001$) с детьми и подростками в возрасте до 18 лет – 30 случаев тромбоза среди 528 ($6,1 \pm 1,1$ %) детей.

Тромбоз возник на этапе индукционной терапии у 16 пациентов ($2,8 \pm 0,7$ %) из 592. У 13 ($4,2 \pm 1,1$ %) из 331 пациента, получившего PEG-asp в дозе $1000 \text{ ME}/\text{m}^2$, тромбоз зарегистрирован в первые 6 нед лечения. Среди 261 пациента, не получавших PEG-asp в соответствии с рандомизацией, тромбоз диагностирован ($p = 0,03498$) у 3 ($1,2 \pm 0,7$ %) пациентов. Однократное применение PEG-asp в дозе $1000 \text{ ME}/\text{m}^2$ на этапе индукционной терапии повышало относительный риск (ОР) возникновения тромбоза в первые 5 нед лечения в 3 раза (ОР 3,4; 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,98–11,9) по сравнению с пациентами, не получавшими PEG-asp. Наиболее часто тромбоз возникал у пациентов в возрасте старше 15 лет. Тромбоз осложнил лечение 6 из 260 детей и подростков в возрасте моложе 15 лет ($2,5 \pm 1,0$ %) по сравнению

с 7 из 71 подростка ($9,9 \pm 3,6$ %) в возрасте старше 15 лет ($p = 0,0062$) (рис. 1).

В постиндукционном периоде среди 575 пациентов тромбоз выявлен у 28 ($5,3 \pm 1,0$ %). Как и на этапе индукционной терапии, тромбоз чаще ($p = 0,0031$) возникал у пациентов в возрасте старше 15 лет. Среди 484 детей и подростков моложе 15 лет тромбоз выявлен у 18, среди 91 подростка старше 15 лет – у 10 ($12,4 \pm 3,7$ %). Чаще всего возникновению тромбоза предшествовало назначение L-asp в дозе $25000 \text{ ME}/\text{m}^2$ (5 ($14,7 \pm 6,2$ %) из 33 пациентов) по сравнению с однократным введением PEG-asp в дозе $1000 \text{ ME}/\text{m}^2$ у 2 ($2,5 \pm 1,8$ %) из 79 пациентов ($p = 0,0136$). Кумулятивная частота возникновения тромбоза в постиндукционном периоде при назначении курсовой дозы L-asp в виде инъекций $5000 \text{ ME}/\text{m}^2$ составила $3,6 \pm 1,4$ % (6 из 183 пациентов). В постиндукционном периоде среди 280 пациентов, получивших курсовую дозу L-asp в виде инъекций $10000 \text{ ME}/\text{m}^2$, тромбоз осложнил лечение ОЛЛ у 15 ($6,3 \pm 1,4$ %). Наибольшее значение режим введения L-asp в дозе $10000 \text{ ME}/\text{m}^2$ имел для пациентов в возрасте старше 15 лет (табл. 4).

Таблица 4. Кумулятивная частота возникновения тромбозов в постиндукционном периоде в зависимости от режима применения аспарагиназы и возраста

Table 4. Cumulative incidence of thrombosis during post-induction therapy by asparaginase schedule and age

| Доза аспарагиназы, ME/m ² Asparaginase dose, U/m ² | Возраст <15 лет Age <15 years | | | Возраст ≥15 лет Age ≥15 years | | | p (Gray) |
|---|----------------------------------|--|--|----------------------------------|--|--|----------|
| | n | Случаи тромбоза Cases of thrombosis | Кумулятив- ная частота Cumulative incidence | n | Случаи тромбоза Cases of thrombosis | Кумулятив- ная частота Cumulative incidence | |
| 1000 | 76 | 2 | $2,6 \pm 1,8$ | 3 | 0 | 0 | 0,7759 |
| 5000 | 169 | 5 | $3,2 \pm 1,4$ | 14 | 1 | $10,0 \pm 10,0$ | 0,3981 |
| 10 000 | 209 | 7 | $4,1 \pm 1,6$ | 71 | 8 | $12,4 \pm 4,2$ | 0,0104 |
| 25 000 | 30 | 4 | $12,9 \pm 6,1$ | 3 | 1 | $33,3 \pm 33,3$ | 0,2377 |

Возникновению тромбоза способствовали врожденные и приобретенные аномалии свертывания крови. Среди 42 пациентов с ОЛЛ и тромбозом генетически доказанная тромбофилия была зарегистрирована в 4 случаях. Гомозиготная мутация 20210G>A гена, ответственного за синтез фактора II, выявлена у 1 ($2,4 \pm 2,4$ %) пациента, что мало отличалось от частоты встречаемости этого дефекта $0,7-4,0$ % в европейской популяции здоровых лиц [19, 20]. Гомозиготная мутация 1691G>A (Leiden) гена фактора V, резистентного к протеину С, выявлена у 3 ($7,1 \pm 3,9$ %) пациентов, что также мало превышало частоту выявления данной генетической аномалии $5-8$ % среди здоровых лиц кавказской популяции [13, 21]. Среди пациентов с тромбозами антитела IgM к β_2 -гликопротеину I в количестве 58 МЕ/мл (норма менее 14 МЕ/мл) выявлены у 1 ($2,4 \pm 2,4$ %) из 42 пациентов с ОЛЛ, антитела IgG к кардиолипину в количестве 36 и 48 МЕ/мл (норма менее 14 МЕ/мл) обнаружены у 2 ($4,7 \pm 3,2$ %) подростков, из них у 1 в сочетании с волчаночным антикоагулянтом. В каждом случае венозного тромбоза было констатировано сочетанное влияние тромбогенных факторов. Кроме ОЛЛ как основного заболевания, приема химиопрепаратов, несколько других факторов риска развития тромбоза (тромбофилия, наличие антифосфолипидных антител, снижение активности естественных антикоагулянтов) в различном сочетании были у половины (23 из 42) пациентов с венозным тромбозом (табл. 5). Из 29 пациентов с катетерассоциированным тромбозом гетерозиготная мутация G1691A и G20210A отмечена в 2 случаях. Катетерассоциированный тромбоз на фоне снижения активности антитромбина III менее 50 % наблюдали у 2 пациентов, на фоне снижения активности протеина С менее 50 % – у 2, сочетанное снижение менее 50 % активности антитромбина III и протеина С – у 1.

Катетернезависимый венозный тромбоз на фоне гомозиготной мутации G1691A отмечен у 2 пациентов, сочетанное снижение антитромбина III и протеина S менее 50 % – у 2. Также мы наблюдали в случае катетернезависимого тромбоза в присутствии волчаночного антикоагулянта 3 пациентов и 1 подростка с повышенным титром (46 МЕ/мл) IgG к кардиолипину. Повторный анализ через 12 нед подтвердил повышенный титр маркеров антифосфолипидного синдрома, включая присутствие волчаночного антикоагулянта; перед отменой антикоагулянтов тесты на присутствие маркеров антифосфолипидного синдрома были отрицательны. Результаты динамического наблюдения за пациентами выявили последующую нормализацию активности естественных антикоагулянтов у пациентов, благополучно завершивших лечение, что исключало врожденную патологию свертывания.

Генетические маркеры тромбофилии ($n = 4$), антифосфолипидные антитела ($n = 3$) и волчаночный антикоагулянт ($n = 4$) были зарегистрированы

у пациентов с тромбозом, выявленным на любом этапе лечения. На этапе индукции или консолидации I тромбоз выявлен у 17 из 23 пациентов, имевших снижение активности антикоагулянтов и различные маркеры тромбофилии, и у 9 из 19 пациентов, не имевших маркеров тромбофилии. Наличие маркеров тромбофилии и снижение активности антикоагулянтов у пациентов с тромбозом повышали риск выявления тромбоза на ранних этапах лечения не более чем в 1,5 раза по сравнению с пациентами, не имеющими маркеров тромбофилии (ОР 1,56; 95 % ДИ 0,92–2,65).

Полученные нами результаты исследования стали основанием для последующей регистрации перечисленных показателей свертывания, а также учета транзиторных и постоянно действующих факторов риска по факту возникновения венозной окклюзии в целях уточнения причины тромбоза и определения тактики антикоагулянтной терапии.

Терапевтическую дозу далтепарина натрия 150–200 МЕ/кг на протяжении всего этапа протромботического лечения получали 30 пациентов, из них полная реканализация тромбированного сосуда выявлена у 19, частичная – у 6, облитерация преимущественно внутренней яремной вены наступила у 5. У 4 пациентов продолжительность антикоагулянтной терапии составила до 1 мес, у 8 – 2–3 мес, у 12 – 4–6 мес, у 4 – 7–12 мес. Более 24 мес варфарин получают 2 пациента с гетерозиготной мутацией 20210G>A и 1691G>A и повторным тромбозом, возникшим *de novo* после достигнутой ранее частичной реканализации вен. Кровотечений, представляющих угрозу жизни, требующих гемотрансфузии и восполнения объема циркулирующей крови, не зафиксировано. У 1 подростка и 1 взрослого на фоне снижения фибриногена и тромбоцитопении ($0,52$ г/л и 120×10^9 /л; $0,59$ г/л и 50×10^9 /л соответственно) выявлено кровоизлияние в вещество мозга в сочетании с тромбозом венозных синусов. В остром периоде тромбоза в связи с риском распространения интракраниальной гематомы пациенты не получали антикоагулянтов. В подостром периоде после увеличения содержания тромбоцитов более 100×10^9 /л и признаков нормокоагуляции пациентам была назначена терапевтическая доза далтепарина натрия 150 анти-Ха МЕ/кг/сут. Оба благополучно завершили лечение. После завершения лечения основного заболевания по данным МРТ с контрастным усилением нарушений внутримозгового кровотока не выявлено, антикоагулянты отменены. Случаев смерти в результате осложнений антикоагулянтной терапии не было.

Редуцированную с учетом содержания тромбоцитов в крови дозу далтепарина натрия получали 12 пациентов, из них полная реканализация тромбированного сосуда выявлена у 8, частичная – у 2, облитерация вены наступила у 2 пациентов. У 3 пациентов продолжительность антикоагулянтной терапии составила

Таблица 5. Характеристика пациентов с тромбозами в зависимости от этапа лечения и выявления маркеров тромбофилии

Table 5. Characteristics of patients with thrombosis, depending on the treatment phase and identification of thrombophilia markers

| Маркер тромбофилии Thrombophilia markers | Индукция (n = 16) Induction (n = 16) | Этап консолидации Consolidation | | | Блоки (№ 6) для группы высокого риска (n = 6) High risk-blocks (N 6) (n = 6) |
|--|--|------------------------------------|------------------|------------------|--|
| | | I (n = 10) | II (n = 4) | III (n = 6) | |
| 20210G>A | 1 КАТ+ 1 САТ+ | | | | |
| 1691G>A (Leiden) | | 1 | | | |
| 1691G>A (Leiden) + ВА 1691G>A (Leiden) + LA | 1 КАТ+ 1 САТ+ | | | | |
| 1691G>A (Leiden) + (АТ III+ PrC) <50 % | | 1 | | | |
| ВА (положительный) LA (positive) | 2 | 1 | | | |
| аКЛ (IgG) aCL AB (IgG) | | | | 1 КАТ+ 1 САТ+ | |
| аКЛ (IgG) + ВА (положительный) aCL AB (IgG) + LA (positive) | 1 | | | | |
| А/т к β_2 GP-I (IgM) β_2 GP-I AB (IgM) | | | | | 1 КАТ+ 1 САТ+ |
| АТ III <50 % | 1 КАТ+ 1 САТ+ | 1 КАТ+ 1 САТ+ | 1 | | |
| PrC <50 % | 1 | 1 КАТ+ 1 САТ+ | | 1 КАТ+ 1 САТ+ | |
| Pr S <50 % | 1 | | | | |
| (АТ III + PrC) <50 % | 1 | 1 | | | 1 КАТ+ 1 САТ+ |
| (АТ III+ PrS) <50 % | 1 | | | | |
| (PrC + PrS) <50 % | 1 | | | | 1 КАТ+ 1 САТ+ |
| КАТ+ САТ+ | 5 КАТ+ 5 САТ+ | 4 КАТ+ 4 САТ+ | 3 КАТ+ 3 САТ+ | 4 КАТ+ 4 САТ+ | 3 КАТ+ 3 САТ+ |
| Всего случаев венозного тромбоза, включая КАТ+ Total number of venous thrombosis cases including CAT+ | 8 | 6 | 3 | 6 | 6 |
| Всего пациентов, имевших сниже- ние активности антикоагулянтов и маркеры тромбофилии, n (%) Total patients who had a decrease in anticoagulants activity and thrombophilia markers, n (%) | 11 (68,7) | 6 (60,0) | 1 (25,0) | 2 (33,3) | 3 (50,0) |

Примечание. КАТ – катетерассоциированный тромбоз; 20210G>A – мутация гена фактора протромбина; 1691G>A FV Leiden – мутация гена фактора V; ВА – волчаночный антикоагулянт; АТ III – активность антитромбина III; PrC – активность протеина С; аКЛ (IgG) – антикардиолипидные антитела класса иммуноглобулина G; а/т к β_2 GP-I (IgM) – антитела к β_2 -гликопротеину I класса иммуноглобулина M; PrS – активность протеина S.

Note. CAT – catheter associated venous thrombosis; 20210G>A – mutation of prothrombin factor gene; 1691G>A FV Leiden – mutation of factor V gene; LA – lupus anticoagulant; AT III – antithrombin III activity; PrC – protein C activity; aCL AB (IgG) – anticardiolipin antibodies; β_2 GP-I AB (IgM) – antibodies to β_2 glycoprotein; PrS – protein S activity.

до 1 мес, у 4 – 2–3 мес, у 3 – 4–6 мес, у 2 – 7–12 мес. В состоянии тромбоцитопении (28×10^9 /л) на фоне септического шока у 1 взрослого пациента

с тромбозом бедренной вены возникло желудочно-кишечное кровотечение, потребовавшее многократной трансфузии донорской тромбоцитарной массы

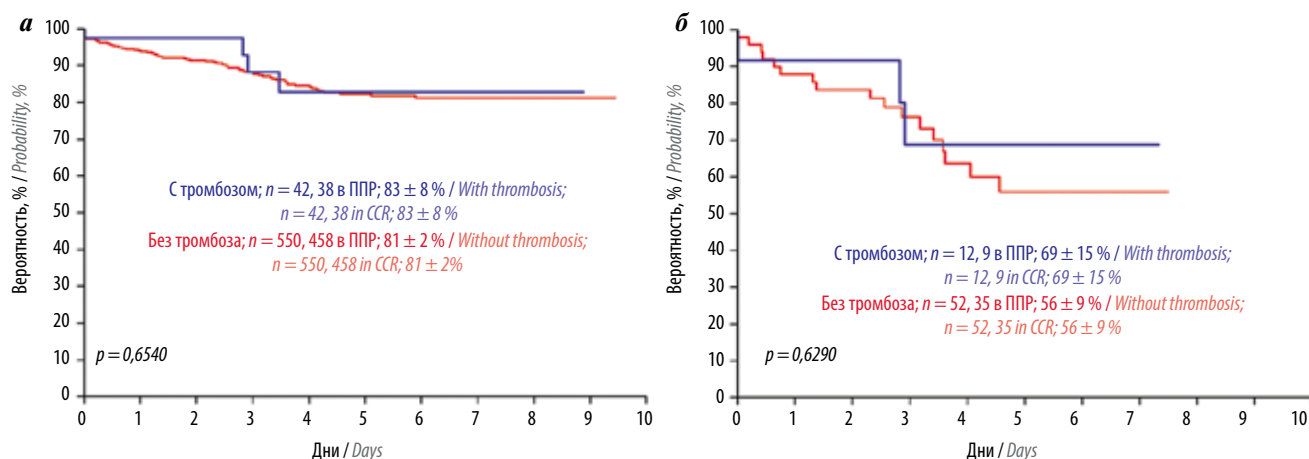


Рис. 2. Бессобытийная выживаемость пациентов с венозным тромбозом, осложнившим программное лечение острого лимфобластного лейкоза, на фоне антикоагулянтной терапии: а – все пациенты исследования; б – пациенты старше 18 лет. ППР – полная продолжительная ремиссия
Fig. 2. Event-free survival in patients with venous thrombosis complicating acute lymphoblastic leukemia treatment receiving anticoagulant therapy: а – all study patients; б – patients >18 years old. CCR – continuous complete remission

и определившее противопоказания для продолжения антикоагулянтной терапии, пациент умер.

Среди 12 пациентов, получавших редуцированную дозу НМГ, от осложнений лечения умер 1 (8,3 %) больной. В группе пациентов, получавших полную терапевтическую дозу НМГ 150–200 МЕ/кг/сут, летальных исходов в результате осложнений противотромботического лечения не зарегистрировано ($p = 0,1095$). Исход тромбоза в анализируемых группах пациентов, получавших терапевтическую и редуцированную дозу НМГ, не зависел от режима дозирования НМГ (для шестипольной таблицы $\chi^2 = 0,494$; $p = 0,78$). Данное обстоятельство в условиях ретроспективного, одноцентрового, рандомизированного исследования указывало на то, что редуцирование терапевтической дозы НМГ в зависимости от содержания тромбоцитов в периферической крови пациентов не повлияло на исход тромбоза в анализируемых группах.

Среди 550 больных без тромбоза благополучно завершили лечение по поводу ОЛЛ с выходом в полную продолжительную ремиссию 458 ($81,0 \pm 2,0\%$) пациентов. Поддерживающую терапию завершили 38 из 42 пациентов с тромбозом. Бессобытийная выживаемость пациентов с ОЛЛ в анализируемой группе у больных с тромбозом составила $83,0 \pm 8,0\%$, что не отличалось ($p = 0,654$) от таковой у пациентов без тромбозов ($81,0 \pm 2,0\%$) (рис. 2). Бессобытийная выживаемость среди пациентов без тромбоза в возрасте старше 18 лет составила $56,0 \pm 9,0\%$, что не отличалось ($p = 0,6290$) от таковой у пациентов с тромбозами ($69,0 \pm 15,0\%$).

Обсуждение

Пациентам с венозным тромбозом, возникшим на фоне онкологического заболевания, группой экспертов Международного общества «Тромбоз и гемостаз» рекомендована полная терапевтическая доза НМГ при числе тромбоцитов более $50 \times 10^9/\text{л}$. В случае

острого (до 1 мес со дня выявления) тромбоза при числе тромбоцитов менее $50 \times 10^9/\text{л}$ осуществляют трансфузию донорских тромбоцитов и продолжают введение полной терапевтической дозы НМГ. При подостром (1–3 мес) или хроническом (более 3 мес) тромбозе на фоне тромбоцитопении менее $50 \times 10^9/\text{л}$ эксперты рекомендуют уменьшить терапевтическую дозу НМГ на 50 % или использовать профилактическую дозу НМГ у пациентов с числом тромбоцитов $(25–50) \times 10^9/\text{л}$. Величины терапевтической или профилактической доз НМГ в рекомендациях не оговорены [13, 14]. Следует подчеркнуть, что в Рекомендациях экспертов не предусмотрены сочетанные нарушения свертывания, такие как тромбоцитопения и угнетение синтеза факторов свертывания крови. Авторы отдельных публикаций уточнили минимальное значение тромбоцитов $30 \times 10^9/\text{л}$, по достижении которого прекращали введение НМГ и выполняли трансфузию донорской тромбоцитарной массы [22].

Введение суточной дозы НМГ 150–200 анти-Ха МЕ/кг при исходном состоянии нормокоагуляции обеспечивает достижение терапевтического диапазона 0,5–0,8 анти-Ха МЕ/л, вызывает увеличение активированного парциального тромбопластинового времени в 1,5–1,7 раза и торможение генерации тромбина до $500 \text{ нМ/л} \times \text{мин}$ [23]. На фоне гипофибриногенемии $<0,8 \text{ г/л}$ и тромбоцитопении $(50–100) \times 10^9/\text{л}$ применение НМГ согласно рекомендациям экспертов в суточной дозе 150–200 анти-Ха МЕ/кг может создать реальную предпосылку для развития геморрагических осложнений. Избежать геморрагических осложнений антикоагулянтной терапии тромбоза на фоне гипофибриногенемии и тромбоцитопении позволила внесенная нами модификация выбора редуцированной дозы далтепарина натрия с учетом реального содержания тромбоцитов в периферической крови.

Гипокоагуляционные изменения (содержание фибриногена $<0,8 \text{ г/л}$ в сочетании со снижением

содержания тромбоцитов в крови менее $100 \times 10^9/\text{л}$) на фоне применения аспарагиназы (особенного пегилированной формы) по нашим, не опубликованным, данным возникают у каждого 3-го пациента с ОЛЛ (38 из 126 проанализированных за 2017–2018 г. в ходе протокола лечения ALL-MB-2015). Венозный тромбоз осложнил лечение каждого 7-го пациента из 100. Данное обстоятельство указывает на необходимость сдержанного и взвешенного отношения к выбору способа профилактики тромбозов у пациентов с ОЛЛ.

Заключение

Таким образом, среди 592 пациентов с ОЛЛ, получавших программное лечение по протоколам ALL-MB-2008 ($n = 401$) и ALL-MB-2015 ($n = 191$) с 2008 по 2017 г., тромбоз выявлен у 42 пациентов. Кумулятивная частота выявления тромбоза составила $7,5 \pm 1,1 \%$.

Мы подтвердили, что венозные тромбозы у пациентов с ОЛЛ возникают на любом этапе лечения, независимо от пола. Более трети от общего числа тромбозов выявлено на этапе индукционной терапии. Кумулятивная частота выявления тромбозов в индукции составила $2,7 \pm 0,7 \%$. В возрасте до 10 лет

кумулятивная частота возникновения тромбозов составила $4,3 \pm 1,0 \%$, старше 10 лет – $15,1 \pm 2,8 \%$ ($p < 0,0001$). Наибольшая кумулятивная частота возникновения венозных тромбозов ($19,7 \pm 5,1 \%$) зарегистрирована в возрасте старше 18 лет ($p = 0,0001$).

Мы показали, что однократное применение PEG-asp в дозе $1000 \text{ ME}/\text{m}^2$ на этапе индукционной терапии увеличивает ОР возникновения тромбоза в первые 5 нед лечения в 3 раза (ОР 3,4; 95 % ДИ 0,98–11,9) по сравнению с пациентами, не получавшими PEG-asp. Кумулятивная частота выявления тромбозов у пациентов с режимом постиндукционной L-asp 25000 составила $14,7 \pm 2,6 \%$, что было выше ($p = 0,05361$), чем при использовании L-asp в других режимах дозирования.

Наличие венозного тромбоза на фоне предлагаемой схемы противотромботической терапии с применением НМГ не привело к снижению бессобытийной выживаемости пациентов с ОЛЛ по сравнению с пациентами, не имевшими тромбозов. Редуцирование терапевтической дозы НМГ по предлагаемой нами схеме не повлияло на исход тромбоза в анализируемых группах.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Жарикова Л.И., Румянцева Ю.В., Карачунский А.И. Тромбозы у детей с острым лимфобластным лейкозом. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2015;14(3):39–47. DOI: 10.24287/1726-1708-2015-14-3-39-47. [Zharikova L.I., Rumyantseva Yu.V., Karachunskiy A.I. Thromboses in children with acute lymphoblastic leukemia. *Voprosy gematologii/oncologii i immunopatologii v pediatrii* = Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2015;14(3):39–47. (In Russ.)].
2. Siegel R., Ward E., Brawley O., Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 2011;61(4):212–9. DOI: 10.3322/caac.20121.
3. Vora A., Goulden N., Wade R. et al. Treatment reduction for children and young adults with low-risk acute lymphoblastic leukaemia defined by minimal residual disease (UKALL 2003): a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2013;14(3):199–209. DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70600-9.
4. Raetz E.A., Salzer W.L. Tolerability and efficacy of L-asparaginase therapy in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2010;32(7):554–63. DOI: 10.1097/MPH.0b013e3181e6f003.
5. Payne J.H., Vora A.J. Thrombosis and acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2007;138(4):430–9. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2007.06677.x.
6. Athale U.H., Laverdiere C., Nayager T. et al. Evaluation for inherited and acquired prothrombotic defects predisposing to symptomatic thromboembolism in children with acute lymphoblastic leukemia: a protocol for a prospective, observational, cohort study. *BMC Cancer* 2017;17(1):313. DOI: 10.1186/s12885-017-3306-5.
7. Tuckuviene R., Ranta S., Albertsen B.K. et al. Prospective study of thromboembolism in 1038 children with acute lymphoblastic leukemia: a Nordic Society of Pediatric Hematology and Oncology (NOPHO) study. *J Thromb Haemost* 2016;14(3):485–94. DOI: 10.1111/jth.13236.
8. Caruso V., Iacoviello L., Di Castelnuovo A. et al. Thrombotic complications in childhood acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis of 17 prospective studies comprising 1752 pediatric patients. *Blood* 2006;108(7):2216–22. DOI: 10.1182/blood-2006-04-015511.
9. Hunault-Berger M., Chevallier P., Delain M. et al. Changes in antithrombin and fibrinogen levels during induction chemotherapy with L-asparaginase in adult patients with acute lymphoblastic leukemia or lymphoblastic lymphoma. Use of supportive coagulation therapy and clinical outcome: the CAPELAL study. *Haematologica* 2008;93(10):1488–94. DOI: 10.3324/haematol.12948.
10. Sutor A.H., Mall V., Thomas K.B. Bleeding and thrombosis in children with acute lymphoblastic leukaemia, treated according to the ALL-BFM-90 protocol. *Klin Padiatr* 1999;211(4):201–5. DOI: 10.1055/s-2008-1043788.
11. Bezeaud A., Drouet L., Leverger G. et al. Effect of L-asparaginase therapy for acute lymphoblastic leukemia on plasma vitamin K-dependent coagulation factors and inhibitors. *J Pediatr* 1986;108(5 Pt 1):698–701.
12. Conard J., Horellou M.H., Van Dreden P. et al. Decrease in protein C in L-asparaginase-treated patients. *Br J Haematol* 1985;59(4):725–34.
13. Kearon C., Akl E., Ornelas J. et al. Antithrombotic therapy for VTE disease. CHEST Guideline and Expert Panel Report. *CHEST* 2016;149(2):315–52. DOI: 10.1016/j.chest.2015.11.026.
14. Carrier M., Khorana A., Zwicker J. et al. Management of challenging cases of patients with cancer-associated thrombosis including recurrent thrombosis and bleeding: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2013;11(9):1760–5. DOI: 10.1111/jth.12338.
15. Saccullo G., Malato A., Raso S. et al. Cancer patients requiring interruption of long-term warfarin because of surgery

- or chemotherapy induced thrombocytopenia: the use of fixed subtherapeutic doses of low molecular weight heparin. *Am J Hematol* 2012;87(4):388–91. DOI: 10.1002/ajh.23122.
16. Kerlin B., Stephens J., Hogan M. et al. Development of a pediatric-specific clinical probability tool for diagnosis of venous thromboembolism: a feasibility study. *Pediatr Res* 2015;77(3):463–71. DOI: 10.1038/pr.2014.198.
 17. Poort S.R., Rosendaal F.R., Reitsma P.H., Bertina R.M. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996;88(10):3698–703.
 18. Nasiruddin, Zahur-ur-Rehman, Anwar M. et al. Frequency of factor V Leiden mutation. *J Coll Physicians Surg Pak* 2005;15(1):15–7. DOI: 01.2005/JCP-SP.1517.
 19. Kenet G., Lütkehoff L.K., Albisetti M. et al. Impact of thrombophilia on risk of arterial ischemic stroke or cerebral sinus-venous thrombosis in neonates and children: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Circulation* 2010;121(16):1838–47. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.913673.
 20. Mannucci P.M., Franchini M. Classic thrombophilic gene variants (2015). *Thromb Haemost* 2015;114(5):885–9. DOI: 10.1160/TH15-02-0141.
 21. Жарков П.А., Ройтман Е.В., Свиринов П.В. и др. Влияние носительства протромботических полиморфизмов на риск развития венозного тромбоза у детей. *Гематология и трансфузиология* 2012;57(4):27–34. [Zharkov P.A., Roitman E.V., Svirin P.V. et al. The risk of venous thromboembolism in children carrying prothrombotic polymorphisms. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology* 2012;57(4):27–34. (In Russ.)].
 22. Babilonia K.M., Golightly L.K., Gutman J.A. et al. Antithrombotic therapy in patients with thrombocytopenic cancer: outcomes associated with reduced-dose, low-molecular-weight heparin during hospitalization. *Clin Appl Thromb Hemost* 2014;20(8):799–806. DOI: 10.1177/1076029614543140.
 23. Dmitriev E.V. Nadroparin and dalteparin pharmacokinetics in thromboses complicated the treatment of children with oncological diseases. The Book of Abstracts The Congress on Open Issues in Thrombosis and Hemostasis 2018 jointly with the 9th Russian Conference on Clinical Hemostasiology and Hemorheology, Saint Petersburg, Russia October 4–6, 2018, p 60. www.coith2018.com.

Вклад авторов

В.В. Дмитриев: разработка концепции и дизайна, сбор и обработка данных, предоставление материалов исследования, анализ и интерпретация данных;

Н.В. Мигаль: сбор и обработка данных, анализ и интерпретация данных;

О.И. Быданов: разработка концепции и дизайна, популяционный анализ с привлечением данных регистра, анализ и интерпретация данных;

Н.В. Липай: предоставление материалов исследования;

Е.В. Дмитриев: сбор и обработка данных.

Authors' contributions

V.V. Dmitriev: concept and design, data collection and processing, provision of research materials, analysis and interpretation of data;

N.V. Migal: data collection and processing, analysis and interpretation of data;

O.I. Bydanov: concept and design, population analysis using register data, analysis and interpretation of data;

N.V. Lipay: provision of research materials;

E.V. Dmitriev: data collection and processing.

ORCID авторов/ORCID of authors

В.В. Дмитриев/V.V. Dmitriev: <https://orcid.org/0000-0002-2738-429X>

Н.В. Липай/N.V. Lipay: <https://orcid.org/0000-0002-8304-1005>

Е.В. Дмитриев/E.V. Dmitriev: <https://orcid.org/0000-0003-0233-7718>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Все пациенты или их родители подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Informed consent. All patients or their parents gave written informed consent to participate in the study.

Рецидивирующее течение тромбозов глубоких вен у детей со злокачественными заболеваниями крови: обзор литературы

Д.С. Морозова¹, Д.А. Евстратов², П.А. Жарков²

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Саморы Машела, 1;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»; Россия, 119991 Москва, ул. Ленинские горы, 1

Контакты: Дарья Сергеевна Морозова darsmorozova@gmail.com

Венозный тромбоз у детей со злокачественными заболеваниями — редкое осложнение. Несмотря на успешное лечение, сохраняется вероятность развития рецидива тромбоза глубоких вен. Рецидивы тромбоза глубоких вен у детей со злокачественными заболеваниями являются редким осложнением, значительно снижающим качество жизни, тогда как у взрослых рецидивы тромбоза глубоких вен отрицательно влияют на выживаемость, ограничивая эффективность проводимого лечения. Факторы риска, влияющие на развитие рецидива тромбоза глубоких вен у детей, особенно госпитализированных для лечения злокачественных заболеваний, изучены недостаточно.

Ключевые слова: венозный тромбоз, рецидив, дети, тромбоз глубоких вен, рак, лейкоз

Для цитирования: Морозова Д.С., Евстратов Д.А., Жарков П.А. Рецидивирующее течение тромбозов глубоких вен у детей со злокачественными заболеваниями крови: обзор литературы. Онкогематология 2019;14(2):24–8.

DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-2-24-28

Recurrent deep vein thrombosis in children with malignant blood diseases: literature review

D.S. Morozova¹, D.A. Evstratov², P.A. Zharkov²

¹Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia;

²Lomonosov Moscow State University; 1 Leninskie Gory, Moscow 119991, Russia

Venous thromboembolism is not a rare complication in children with cancer. Despite the advantages of the treatment of venous thromboembolism there is still a probability of venous thromboembolism recurrence. In adult patients with cancer venous thromboembolism recurrence an influence on the lower survival rate. In children with cancer venous thromboembolism recurrence is a rare complication, but it can significantly reduce the quality of life. Risk factors of venous thromboembolism recurrence in children with cancer are not properly investigated.

Key words: venous thromboembolism, recurrent thrombosis, children, deep vein thrombosis, cancer, leukemia

For citation: Morozova D.S., Evstratov D.A., Zharkov P.A. Recurrent deep vein thrombosis in children with malignant blood diseases: literature review. Onkogematologiya = Oncohematology 2019;14(2):24–8.

Введение

Венозный тромбоз (ВТ) является одной из главных причин инвалидизации и смертности у взрослых пациентов со злокачественными заболеваниями (ЗЗ) [1]. Возникновение ВТ у детей со ЗЗ отрицательно влияет на выживаемость как напрямую, за счет повышения риска смерти от тромбоза, так и опосредованно, за счет вынужденного увеличения длительности лечения и снижения интенсивности специфической терапии, увеличения времени пребывания пациента в стационаре и повышения стоимости лечения. Кроме этого, ВТ ухудшает качество жизни пациентов [2, 3]. При этом пациенты со ЗЗ имеют повышенный риск

как повторных тромботических эпизодов, так и кровотечений [4]. Кровотечения могут быть обусловлены не только изменениями со стороны свертывающей системы крови при подборе антитромботической терапии, но и биологией ЗЗ, а также проводимым противоопухолевым лечением [5, 6].

Таким образом, лечение тромбоза глубоких вен (ТГВ) у пациента со ЗЗ является нетривиальной задачей. С одной стороны, имеется высокая вероятность развития рецидива тромбоза, с другой — большой риск возникновения геморрагических осложнений при проведении антитромботической терапии. Цель лечения ТГВ — не только достижение реканализации

пораженного сосуда, но и вторичная профилактика повторных тромботических эпизодов. Тем не менее частота и причины возникновения рецидивов венозных тромбозов как у взрослых, так и у детей, со 33 остаются малоизученными.

Цель исследования — анализ частоты и определение факторов риска повторных ТГВ у детей со 33 на основании доступных данных литературы.

Венозные тромбозы у детей со злокачественными заболеваниями

Распространенность ТГВ растет и достигает 94 эпизодов на 10 тыс. обращений среди пациентов подросткового возраста. На данный момент частота их выявления приближается к таковой у взрослых пациентов [2, 7]. В большинстве случаев ВТ у детей являются вторичными и возникают на фоне травм, обширных хирургических вмешательств, наличия центрального венозного катетера (ЦВК), септических состояний, 33, причем последние занимают особое место [2, 3, 8–11]. С учетом последних данных можно сделать вывод о том, что распространенность ТГВ у детей, получающих терапию по поводу гемобластозов, сопоставима с таковой у взрослых пациентов [12]. Несмотря на то что большинство ТГВ в детской онкологии-гематологии представлено асимптотическими эпизодами, симптоматические ТГВ могут наблюдаться у 5–10 % пациентов с гемобластомами и у 3 % пациентов с апластическими анемиями [12]. Действительно, частота симптоматических ВТ при остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ) у детей сильно колеблется — от 1,1 до 36,5 %, в то время как асимптотические эпизоды встречаются у 16–70 % пациентов [11, 13–15]. До 50 % ВТ у детей локализовано в бассейне верхней полой вены [15, 16]. Поражение центральных венозных синусов наблюдается у 6–24 % детей с ОЛЛ [16–18]. Симптоматические тромбозы в бассейне глубоких вен нижних конечностей отмечаются в 7,7 % случаев, в поверхностных венах — в 2,2 %, в полости правого предсердия — в 1 % всех ВТ у детей [14]. В метаанализе, включавшем 1752 случая с ОЛЛ, частота ВТ составила 5,2 %, причем, как и у взрослых, у детей основная часть эпизодов наблюдалась во время проведения индукции (у 61 (4,8 %) из 1280 пациентов) [14].

Следующей группой опухолей по частоте развития ВТ у детей являются лимфомы и саркомы. ВТ при лимфомах встречаются у 10,7 % пациентов, приблизительно с равной частотой при неходжкинских лимфомах и лимфоме Ходжкина [12, 19]. В другом исследовании ТГВ был выявлен у 20,7 % детей и подростков с лимфомой Ходжкина, причем большинство ВТ были асимптотическими [20]. В данном исследовании у 7 (58,3 %) пациентов тромбоз был диагностирован на этапе индукции, у 1 (8,3 %) — на момент постановки диагноза, у 3 (25,0 %) — на этапе консолидации и у 1 (8,3 %) — на этапе проведения лучевой

терапии. Стоит отметить, что все симптоматические ТГВ были диагностированы к моменту окончания индукции.

У детей с острым миелоидным лейкозом ВТ встречаются с частотой 15,63 %, при этом наибольшее количество симптоматических тромбозов наблюдалось у детей в возрасте 16 лет. Несмотря на то что пик заболеваемости приходился на возраст 0–2 лет, наибольшая частота ТГВ отмечена в возрасте 5, 7 и 13 лет [12]. В другом исследовании симптоматические ТГВ были зарегистрированы у 6 % детей с острым миелоидным лейкозом [15]. В случае апластических анемий нет данных о влиянии возраста на риск возникновения ТГВ [12]: наибольшая их частота наблюдалась как в возрасте 1 года, так и 15 лет.

Важно отметить, что, в отличие от взрослых пациентов, у детей симптоматические ВТ при опухолях центральной нервной системы встречаются достаточно редко [21, 22]. Также имеются единичные описания тромботических осложнений при миксеме сердца [23] и саркомах [24].

Возникновение повторных эпизодов ТГВ отрицательно сказывается на выживаемости взрослых пациентов со 33 [25]. В среднем рецидивирующее течение ТГВ наблюдается у 17,5 % взрослых пациентов [21], при этом наличие 33 является одним из наиболее весомых факторов риска рецидива ТГВ (рТГВ) [26]. Пациенты со 33 имеют больший риск развития как кровотечений при антикоагулянтной терапии, так и рецидивов тромбозов, причем распространенность последних в 4 раза выше, чем у пациентов без сопутствующих 33 [4]. Данные осложнения не объясняются гипо- или гиперкоагуляцией при подборе антикоагулянтной терапии и явно имеют патогенез, связанный со 33 и получаемой химиотерапией [5, 6].

В исследовании P. Prandoni и соавт. было показано, что распространенность рТГВ тем выше, чем больше распространенность 33 [4]. Так, 33-ассоциированный ТГВ встречается у 20–30 % детей [28]. В этом случае тромбозы носят в основном асимптотический характер, в то время как для симптоматических тромбозов необходимо наличие таких дополнительных факторов риска, как ЦВК, крупная опухоль и др. [20].

Анализ риска развития рТГВ по нозологическим группам и возрасту, проведенный J.D. Douketis, выявил наибольший относительный риск у пациентов со 33, затем — с хроническими сердечно-сосудистыми и респираторными заболеваниями [29]. В детской популяции, согласно данным U. Nowak-Gotti и соавт., у неонкологических пациентов повторный тромбоз встречался в 21,3 % случаев с медианой времени после окончания приема антикоагулянтов 3,5 года [30]. Частота осложнений в виде кровотечений и тромбозов одинакова для инициального периода антикоагулянтной терапии, однако после 6 мес терапии распространенность рТГВ уменьшалась [31]. Также было

показано, что для более пожилых пациентов риск рТГВ меньше, а наличие ТГВ в анамнезе и пол в данном исследовании не являлись факторами риска.

P. Prandoni и соавт. в течение 10 лет наблюдали за 1626 взрослыми пациентами с ранее диагностируемыми ТГВ или тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА) после окончания приема антагонистов витамина К [32]. Через 50 мес рТГВ был отмечен у 22,9 % пациентов; кумулятивная заболеваемость через 1 год составила 11,0 %, через 3 года – 19,6 %, через 5 лет – 29,1 %, через 10 лет – 39,9 %.

Несмотря на то что ТГВ является одним из осложнений при лечении детей со ЗЗ, одна из первых работ, изучающих влияние данного осложнения на выживаемость у пациентов с лейкозами и лимфомами, стала доступна только в 2018 г.: 1-летняя выживаемость пациентов с ТГВ была значимо ниже, чем у пациентов с тем же диагнозом, но без ТГВ. К. Kulkarni и соавт. показали, что у детей с лейкозами и лимфомами ТГВ развивался в 8 и 10 % случаев соответственно [33]. Из всех пациентов, включенных в исследование, частота тромбозов составила 8 %, при этом более половины (58 %) были ассоциированы с ЦВК, с преобладающей локализацией в верхней венозной системе, что подтверждается данными работы U. Athale и соавт. [15].

Повторные эпизоды тромбозов глубоких вен у детей со злокачественными заболеваниями

Одной из первых работ, в которой охарактеризована частота рТГВ у детей, является исследование Канадского детского центра тромбофилии [8, 34]: у 9 из 65 погибших госпитализированных детей смерть наступила в результате повторных ТГВ/ТЭЛА, все из которых были ЦВК-ассоциированные. Тяжелые осложнения, не поддающиеся терапии, были характерны для детей более старшего возраста, так как они имели рТГВ и посттромботический синдром. Однако смертность от ТЭЛА была одинакова во всех возрастных группах. P. Monagle и соавт. в этой работе показали, что 35 (8,1 %) включенных в исследование пациентов имели рТГВ со средним временем по прошествии от первого случая 6 мес [34]. Из этих пациентов только 5 получали вторичную антитромботическую профилактику в момент рецидива. В данной работе 102 из 405 пациентов имели ЗЗ/трансплантацию костного мозга, среди них 2 пациента погибли в результате тромбоэмболии, 5 имели рецидив тромбоэмболии, 10 – посттромботический синдром. Y. Guo и соавт. провели метаанализ распространенности ТГВ и рТГВ у детей [35]. Медиана возраста пациентов с рТГВ составляла 14 лет (3,6–15 лет). Во время антикоагулянтной терапии 25 (19,7 %) из 127 пациентов имели рТГВ, однако в 80 % случаев второй ТГВ происходил после прекращения приема антикоагулянтов.

В работе С. Wermes и соавт. показано, что 21 % детей с ОЛЛ имели генетические факторы риска [17].

Различные варианты наследственной тромбофилии (дефицит антитромбина, протеина С и S, G20210A варианта фактора II) доказанно являются фактором риска ТГВ и рТГВ [17], G1691A вариант фактора V и повышенный уровень липопротеина (а) имеют тенденцию приводить к рТГВ [36].

L. Raffini и соавт. провели 7-летнее исследование (с 2001 по 2007 г.) тромботических осложнений у 2921 383 госпитализированных педиатрических пациентов с различными заболеваниями, 12 % из 11 337 пациентов с ТГВ имели рТГВ [2]. Отношение доли пациентов с рТГВ к доле пациентов с одним случаем ТГВ было наименьшим у детей в возрасте до 1 года (21 к 36 %) и наибольшим у подростков (37 к 27 %). Рецидивы ТГВ были ассоциированы с хроническими состояниями, в частности со ЗЗ: распространенность ЗЗ среди пациентов с рТГВ была в 2 раза выше, чем среди пациентов с первым эпизодом ТГВ (24 и 12 % соответственно). Таким образом, на основании проведенного анализа можно предположить, что рецидивирующее течение ТГВ более характерно для пациентов в возрасте старше 1 года и подростков.

Эти данные подтверждаются результатами исследования С. U. Rank и соавт. [37]. Кумулятивная вероятность развития ТГВ была выше у пациентов в возрасте 10–18 лет, чем у пациентов 1–10 лет (15,5 и 3,7 % соответственно, $p = 0,0001$). Риск симптоматических ТГВ повышают установка ЦВК [37] и применение L-аспарагиназы в дозах менее 10 000 ЕД/м² в течение более 9 дней [14].

В исследовании I.L.M. Klaassen и соавт. были включены 2183 детей со ЗЗ, в том числе с лимфомами, острым миелоидным лейкозом и ОЛЛ [38]. Рецидив ТГВ был диагностирован у 12 (15,4 %) пациентов: из них у четверти повторный тромбоз был той же локализации, что и первый. У 7 пациентов рецидив развился через 3 мес после первого тромботического осложнения. У 7 пациентов рецидив возник на фоне антикоагулянтной терапии (6 пациентов получали низкомолекулярные гепарины в терапевтической дозе и 1 – в профилактической). Однако стоит учесть, что у 3 пациентов дозы гепарина были уменьшены в связи с тромбоцитопенией. При этом следует отметить, что для взрослых пациентов в таком состоянии действует протокол не уменьшения дозы антикоагулянта, а наоборот, ее сохранения одновременно с заместительными трансфузиями тромбоцитарного концентрата [39]. Ни один из онкологических пациентов с ТГВ не умер по причине тромбоза, однако 42 % среди умерших по причине ЗЗ имели рТГВ. Также в этой работе показано, что при IV стадии лимфомы был выявлен тренд к повышению частоты ТГВ. Среди пациентов данной группы рТГВ был обнаружен у 15,4 % детей с ТГВ.

R.F. Grace и соавт. в 2018 г. подтвердили меньшую распространенность рТГВ у детей по сравнению со взрослыми – 17 и 47 % соответственно, несмотря

на антикоагулянтную терапию [16]. Пациенты обеих групп получали повторные введения L-аспарагиназы и к моменту возникновения рТГВ получили в среднем 96 % дозы препарата. Только 2 из 11 пациентов с рТГВ проводили первичную антитромботическую профилактику и диагностику тромбозов в силу подозрения на эффект L-аспарагиназы. Стоит отметить, что данные результаты характерны для симптоматических ТГВ и подтвержденных асимптоматических ТГВ [40].

Заключение

Рецидивы тромботических осложнений у детей со ЗЗ являются редким осложнением, однако значительно снижающим качество жизни и увеличивающим длительность пребывания в стационаре, нарушающим сроки проведения лечебных мероприятий по поводу

основного заболевания. На данный момент выявлено всего несколько факторов, статистически значимо влияющих на риск рТГВ, — ЦВК для симптоматических рТГВ, IV стадия лимфомы и более старший возраст для рТГВ в целом. Однако имеются данные о потенциальных факторах риска — более старший возраст пациентов, длительное лечение рецидивирующих ЗЗ и повторные курсы химиотерапии. Также многими авторами было отмечено, что некорректный подбор доз антикоагулянтов при профилактике, а также отсутствие своевременной диагностики приводили к большому количеству повторных асимптоматических ТГВ. Необходим дальнейший анализ групп риска рецидива тромботических осложнений у госпитализированных детей со ЗЗ для проведения более корректной тромбопрофилактики у таких пациентов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Naess I.A., Christiansen S.C., Romundstad P. et al. Incidence and mortality of venous thrombosis: a population-based study. *J Thromb Haemost* 2007;5(4):692–9. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2007.02450.x.
2. Raffini L., Huang Y.S., Witmer C., Feudtner C. Dramatic increase in venous thromboembolism in children's hospitals in the United States from 2001 to 2007. *Pediatrics* 2009;124(4):1001–8. DOI: 10.1542/peds.2009-0768.
3. O'Brien S.H., Klima J., Termuhlen A.M., Kelleher K.J. Venous thromboembolism and adolescent and young adult oncology inpatients in US children's hospitals, 2001 to 2008. *J Pediatr* 2011;159(1):133–7. DOI: 10.1016/j.jpeds.2011.01.005.
4. Prandoni P., Lensing A.W., Piccioli A. et al. Recurrent venous thromboembolism and bleeding complications during anticoagulant treatment in patients with cancer and venous thrombosis. *Blood* 2002;100(10):3484–8. DOI: 10.1182/blood-2002-01-0108.
5. Nadir Y., Brenner B. Cancer and thrombosis—new insights. *Rambam Maimonides Med J* 2018. DOI: 10.5041/RMMJ.10349.
6. Ogren M., Bergqvist D., Wahlander K. et al. Trousseau's syndrome — what is the evidence? A population-based autopsy study. *Thromb Haemost* 2006;95(3):541–5. DOI: 10.1160/TH05-10-0694.
7. White R.H. The epidemiology of venous thromboembolism. *Circulation* 2003;107(23 Suppl 1):14–8. DOI: 10.1161/01.CIR.0000078468.11849.66.
8. Andrew M., David M., Adams M. et al. Venous thromboembolic complications (VTE) in children: first analyses of the Canadian Registry of VTE. *Blood* 1994;83(5):1251–7.
9. van Ommen C.H., Heijboer H., Büller H.R. et al. Venous thromboembolism in childhood: a prospective two-year registry in The Netherlands. *J Pediatr* 2001;139(5):676–81. DOI: 10.1067/mpd.2001.118192.
10. Nowak-Gottl U., von Kries R., Gobel U. Neonatal symptomatic thromboembolism in Germany: two year survey. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1997;76(3):F163–7.
11. Mitchell L., Andrew M., Hanna K. et al. Trend to efficacy and safety using anti-thrombin concentrate in prevention of thrombosis in children receiving l-asparaginase for acute lymphoblastic leukemia. Results of the PAARKA study. *Thromb Haemost* 2003;90(2):235–44. DOI: 10.1160/TH02-11-0283.
12. Жарков П.А., Морозова Д.С., Гобадзе Д.А. и др. Тромбозы глубоких вен у детей с заболеваниями крови. *Онкогематология* 2019;14(1):20–30. DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-1-20-30. [Zharkov P.A., Morozova D.S., Gobadze D.A. et al. Deep veins thrombosis in children with blood diseases. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2019;14(1):20–30. (In Russ.)].
13. Athale U.H., Chan A.K.C. Thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia. Part II. Pathogenesis of thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia: effects of the disease and therapy. *Thromb Res* 2003;111(4–5):199–212. DOI: 10.1016/j.thromres.2003.10.007.
14. Caruso V., Iacoviello L., Di Castelnuovo A. et al. Thrombotic complications in childhood acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis of 17 prospective studies comprising 1752 pediatric patients. *Blood* 2006;108(7):2216–22. DOI: 10.1182/blood-2006-04-015511.
15. Athale U., Siciliano S., Thabane L. et al. Epidemiology and clinical risk factors predisposing to thromboembolism in children with cancer. *Pediatr Blood Cancer* 2008;51(6):792–7. DOI: 10.1002/pbc.21734.
16. Grace R.F., Dahlberg S.E., Neuberg D. et al. The frequency and management of asparaginase-related thrombosis in paediatric and adult patients with acute lymphoblastic leukaemia treated on Dana-Farber Cancer Institute consortium protocols. *Br J Haematol* 2011;152(4):452–9. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2010.08524.x.
17. Wermes C., von Depka Prondzinski M., Lichtinghagen R. et al. Clinical relevance of genetic risk factors for thrombosis in paediatric oncology patients with central venous catheters. *Eur J Pediatr* 1999;158(Suppl 3):S143–6.
18. Athale U.H., Siciliano S.A., Crowther M. et al. Thromboembolism in children with acute lymphoblastic leukaemia treated on Dana-Farber Cancer Institute protocols: effect of age and risk stratification of disease. *Br J Haematol* 2005;129(6):803–10. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2005.05528.x.
19. Athale U.H., Nagel K., Khan A.A., Chan A.K.C. Thromboembolism in children with lymphoma. *Thromb Res* 2008;122(4):459–65. DOI: 10.1016/j.thromres.2007.12.006.
20. Евстратов Д.А., Жарков П.А., Пшонкин А.В. и др. Венозные тромбозы у детей и подростков с лимфомой Ходжкина. *Педиатрия* 2018;97(4):30–6. [Evstratov D.A., Zharkov P.A., Pshonkin A.V. et al. Venous thrombosis in children and adolescents with Hodgkin's lymphoma. *Pediatriya = Pediatrics* 2018;97(4):30–6. (In Russ.)].
21. Tabori U., Beni-Adani L., Dvir R. et al. Risk of venous thromboembolism in pediatric patients with brain tumors. *Pediatr*

- Blood Cancer 2004;43(6):633–6. DOI: 10.1002/pbc.20149.
22. Deitcher S.R., Gajjar A., Kun L., Heide-
man R.L. Clinically evident venous throm-
boembolic events in children with brain
tumors. *J Pediatr* 2004;145(6):848–50.
DOI: 10.1016/j.jpeds.2004.05.055.
 23. Al-Mateen M., Hood M., Trippel D. et al.
Cerebral embolism from atrial myxoma
in pediatric patients. *Pediatrics*
2003;112(2):e162–7.
 24. Paz-Priel I., Long L., Helman L.J. et al.
Thromboembolic events in children and
young adults with pediatric sarcoma.
J Clin Oncol 2007;25(12):1519–24.
DOI: 10.1200/JCO.2006.06.9930.
 25. Khorana A.A., Francis C.W., Kuderer N.M.
et al. Dalteparin thromboprophylaxis
in cancer patients at high risk for venous
thromboembolism: A randomized
trial. *Thromb Res* 2017;151:89–95.
DOI: 10.1016/j.thromres.2017.01.009.
 26. Heit J.A., O'Fallon W.M., Petterson T.M.
et al. Relative impact of risk factors for
deep vein thrombosis and pulmonary em-
bolism: a population-based study. *Arch
Intern Med* 2002;162(11):1245–8.
DOI: 10.1001/archinte.162.11.1245.
 27. Hansson P.O., Sorbo J., Eriksson H. Re-
current venous thromboembolism after
deep vein thrombosis: incidence and risk
factors. *Arch Intern Med*
2000;160(6):769–74. DOI: 10.1001/
archinte.160.6.769.
 28. Khorana A.A. Venous thromboembolism
and prognosis in cancer. *Thromb Res*
2010;125(6):490–3. DOI: 10.1016/j.
thromres.2009.12.023.
 29. Douketis J.D., Foster G.A., Crowther M.A.
et al. Clinical risk factors and timing of re-
current venous thromboembolism during
the initial 3 months of anticoagulant thera-
py. *Arch Intern Med* 2000;160(22):3431–
6. DOI: 10.1001/archinte.160.22.3431.
 30. Nowak-Gottl U., Junker R., Kreuz W.
et al. Risk of recurrent venous thrombosis
in children with combined prothrombotic
risk factors. *Blood* 2001;97(4):858–62.
 31. López-Núñez J.J., Trujillo-Santos J.,
Monreal M. Management of venous
thromboembolism in patients with cancer.
J Thromb Haemost 2018;16(12):2391–6.
DOI: 10.1111/jth.14305.
 32. Prandoni P., Noventa F., Ghirarduzzi A.
et al. The risk of recurrent venous
thromboembolism after discontinuing
anticoagulation in patients with acute
proximal deep vein thrombosis or
pulmonary embolism. A prospective
cohort study in 1,626 patients.
Haematologica 2007;92(2):199–205.
DOI: 10.3324/haematol.10516.
 33. Kulkarni K., Forbrigger Z., Moorehead P.C.
et al. Correction to: the association
of venous thromboembolism with survival
in pediatric cancer patients: a population-
based cohort study. *Ann Hematol*
2018;97(9):1743. DOI: 10.1007/s00277-
018-3394-6.
 34. Monagle P., Adams M., Mahoney M. et al.
Outcome of pediatric thromboembolic
disease: a report from the Canadian
Childhood Thrombophilia Registry.
Pediatr Res 2000;47(6):763–6.
 35. Guy Y., Albisetti M., Bonduel M. et al.
Impact of inherited thrombophilia on
venous thromboembolism in children.
Circulation 2008;118(13):1373–82.
DOI: 10.1161/
CIRCULATIONAHA.108.789008.
 36. Ho W.K., Hankey G.J., Quinlan D.J.,
Eikelboom J.W. Risk of recurrent venous
thromboembolism in patients with com-
mon thrombophilia: a systematic review.
Arch Intern Med 2006;166(7):729–76.
DOI: 10.1001/archinte.166.7.729.
 37. Rank C.U., Toft N., Tuckuviene R. et al.
Thromboembolism in acute lymphoblastic
leukemia: results of NOPHO ALL2008
protocol treatment in patients aged
1 to 45 years. *Blood* 2018;131(22):2475–
84. DOI: 10.1182/blood-2018-01-827949.
 38. Klaassen I.L.M., van Els A.L., van de
Wetering M.D., van Ommen C.H.
Increasing incidence and recurrence rate
of venous thromboembolism in paediatric
oncology patients in one single centre over
25 years. *Thromb Haemost*
2017;117(11):2156–62. DOI: 10.1160/
TH17-02-0109.
 39. Carrier M., Khorana A.A., Zwicker J.I. et
al. Management of challenging cases of
patients with cancer-associated thrombosis
including recurrent thrombosis and bleed-
ing: guidance from the SSC of the ISTH.
J Thromb Haemost 2013;11(9):1760–5.
DOI: 10.1111/jth.12338.
 40. Tullius B.P., Athale U., van Ommen C.H.,
et al. The identification of at-risk patients
and prevention of venous
thromboembolism in pediatric cancer:
guidance from the SSC of the ISTH.
J Thromb Haemost 2018;16(1):175–80.
DOI: 10.1111/jth.13895.

Вклад авторов

Д.С. Морозова: обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи;

Д.А. Евстратов: обзор публикаций по теме статьи;

П.А. Жарков: разработка дизайна исследования, написание текста рукописи.

Authors' contributions

D.S. Morozova: reviewing of publications on the article's topic, article writing;

D.A. Evstratov: reviewing of publications on the article's topic;

P.A. Zharkov: study design development, article writing.

ORCID авторов/ORCID of authors

Д.С. Морозова/D.S. Morozova: <https://orcid.org/0000-0003-1443-4902>

Д.А. Евстратов/D.A. Evstratov: <https://orcid.org/0000-0003-2801-7421>

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

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 25.03.2019. **Принята к публикации:** 25.04.2019.

Article received: 25.03.2019. **Accepted for publication:** 25.04.2019.

Новые ингибиторы протеасомы в терапии множественной миеломы

С.В. Семочкин

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1;

ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 52 Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 123182 Москва, ул. Пехотная, 3

Контакты: Сергей Вячеславович Семочкин semochkin_sv@rsmu.ru

Прогресс последних 15 лет в терапии множественной миеломы ассоциируется с применением новых препаратов (бортезомиб, леналидомид) и широким использованием аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Несмотря на то что множественная миелома остается неизлечимым заболеванием, медиана общей выживаемости пациентов в России в 2006–2016 гг. достигла 55–68 мес. Ингибиторы протеасомы 2-го поколения (карфилзомиб, иксазомиб) различаются по химической структуре и фармакологическим характеристикам. Схемы на их платформе (KRd (карфилзомиб, леналидомид, дексаметазон), IRd (иксазомиб, леналидомид, дексаметазон) и Kd (карфилзомиб, дексаметазон)) являются новым стандартом лечения рецидивирующей и/или рефрактерной множественной миеломы, демонстрирующим преимущества по выживаемости и частоте ответов даже у пациентов с неблагоприятным прогнозом. В исследовании III фазы ENDEAVOR применение карфилзомиба увеличивало выживаемость пациентов по сравнению с бортезомибом. Оптимальный дозовый режим использования карфилзомиба отработан в исследовании A.R.R.O.W. Активность иксазомиба сопоставима с таковой бортезомиба, однако оральная форма назначения и низкая неврологическая токсичность обеспечивают возможность проведения максимально длительной терапии. В настоящем обзоре представлены сведения по механизмам действия ингибиторов протеасомы и результатам основных клинических исследований. Отдельно обсуждается проблема преодоления новыми препаратами резистентности к бортезомибу.

Ключевые слова: множественная миелома, ингибитор протеасомы, бортезомиб, иксазомиб, карфилзомиб

Для цитирования: Семочкин С.В. Новые ингибиторы протеасомы в терапии множественной миеломы. Онкогематология 2019;14(2):29–40.

DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-2-29-40

New proteasome inhibitors in the management of multiple myeloma

S.V. Semochkin

N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Ostrovityanova St., Moscow 117997, Russia; City Clinical Hospital No 52, Moscow Healthcare Department; 3 Pekhotnaya St., Moscow 123182, Russia

The landscape of multiple myeloma treatment transformed at the last 15 years by the introduction of novel agents (bortezomib, lenalidomide) and wide application of autologous hematopoietic stem cell transplantation, which have prolonged the survival of multiple myeloma patients. Despite the fact that multiple myeloma remains an incurable disease due to the new options, the median overall survival of patients with multiple myeloma in Russia in 2006–2016 was about 55–68 months. Drug resistance and clonal evolution remain a problem. The novel proteasome inhibitors (carfilzomib, ixazomib) differ in chemical structure and pharmacological characteristics. Thereby the next-generation proteasome inhibitor (PIs)-based regimens (KRd (carfilzomib, lenalidomide, dexamethasone), IRd (ixazomib, lenalidomide, dexamethasone), and Kd (carfilzomib, dexamethasone)) are emerging as new standards for the treatment of patients with relapsed and/or refractory multiple myeloma. In a randomized trial phase 3 ENDEAVOR, carfilzomib demonstrated improved survival in direct comparison to bortezomib. The dose-dependent activity of carfilzomib demonstrated in the study of A.R.R.O.W. Activity of ixazomib is comparable to that of bortezomib, the oral method of administration and the absence of neurological toxicity, allow for long-term control of the disease. The new PIs are an important advance in relapsed and/or refractory multiple myeloma treatment, increasing survival, response rate and quality of life, even in subgroups of patients with poor prognosis. This review summarizes the main pharmacological properties, mechanisms of action and clinical outcomes of major clinical studies with these agents. A separate issue discusses the problem of overcoming new proteasome inhibitors of drug resistance to bortezomib.

Key words: multiple myeloma, proteasome inhibitor, bortezomib, ixazomib, carfilzomib

For citation: Semochkin S.V. New proteasome inhibitors in the management of multiple myeloma. Onkogematologiya = Oncohematology 2019;14(2):29–40.

Введение

Множественная миелома (ММ) — клonalная плазмоклеточная опухоль, составляющая около 10 % гемобластозов и 1 % всех злокачественных опухолей. Заболеваемость ММ определяется на уровне 4,5–6,0 случая на 100 тыс. населения в Европе. Чаще болеют пожилые люди с медианой возраста на момент постановки диагноза 72 года [1]. Несмотря на то что ММ остается неизлечимым заболеванием, применение высокоэффективных методов терапии (леналидомид, бортезомиб) и аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) привело к существенному увеличению общей выживаемости (ОВ). В России медиана ОВ пациентов с ММ в 2006–2016 гг. составляла 55–68 мес [2, 3].

За последние 5–7 лет для терапии ММ предложено несколько новых опций, включая 2-ю генерацию ингибиторов протеасомы (ИП) (карфилзомиб, иксазомиб). При этом карфилзомиб продемонстрировал увеличение выживаемости при прямом сравнении с бортезомибом [4]. Помимо этого, стали доступны другие препараты с оригинальными механизмами действия, включая иммуномодулятор (IMiD) 3-го поколения помалидомид, ингибитор гистондиацетилазы панобиностат и моноклональные антитела элтузумаб и даратумумаб [1]. Результаты клинических исследований показывают, что указанные агенты по мере улучшения доступности также способны внести свой вклад в прогресс лечения ММ.

В настоящем обзоре представлены сведения по патофизиологическим механизмам, лежащим в основе действия ИП, и данные клинических исследований по новым препаратам этого класса. Отдельным вопросом обсуждается проблема преодоления новыми ИП первичной или приобретенной резистентности к активно применяемому препарату 1-й генерации бортезомибу. Анализ в основном ограничен контролируемыми исследованиями III фазы, обеспечивающими наиболее полноценные данные для обсуждения.

Патофизиологическое обоснование применения ингибиторов протеасомы при множественной миеломе

Плазматические клетки представляют собой терминально дифференцированные В-лимфоциты, направленные на продукцию антител. Каждая плазматическая клетка способна синтезировать до нескольких тысяч молекул антител в минуту. Секретция моноклонального антитела (М-градиент) является одним из важнейших патофизиологических механизмов, лежащих в основе ММ. Обратный процесс внутриклеточной утилизации белков, например с нарушенной структурой или утративших функциональную ценность, происходит с помощью специального мультикаталитического комплекса, получившего название протеасомы 26S. Медикаментозное ингибирование протеасомы вызывает накопление и перегрузку

белками эндоплазматического ретикулума с развитием специфического стресса. Этот феномен в плазматических клетках в силу очевидных причин более выражен, чем в других типах клеток. Стресс эндоплазматического ретикулума активирует каскад антипролиферативных сигналов, нарушая регуляцию клеточного цикла, запуская апоптоз и последующую гибель клетки [5].

Убиквитинзависимая система деградации белков представляет собой важный биологический механизм, обеспечивающий регуляцию обмена белков как в цитоплазме, так и в ядре клетки [6]. Убиквитин является небольшим консервативным белком, состоящим из 76 аминокислот, который экспрессируется во всех клетках эукариот и обладает способностью конъюгироваться с другими белками [7]. Добавление одной молекулы убиквитина или цепочки из 2–3 мономеров необходимо для реализации регуляторных функций. С помощью полиубиквитиновых цепочек, состоящих не менее чем из 4 мономеров убиквитина, посредством формирования связи с остатком лизина в положении 48 помечаются белки-мишени, подлежащие протеолитическому распаду [8]. Присоединение убиквитина происходит с помощью 3 ферментов (рис. 1). На 1-м этапе убиквитинактивирующий фермент E1 формирует тиол-эфирную связь с убиквитином. Процесс является энергетически затратным с точки зрения потребления

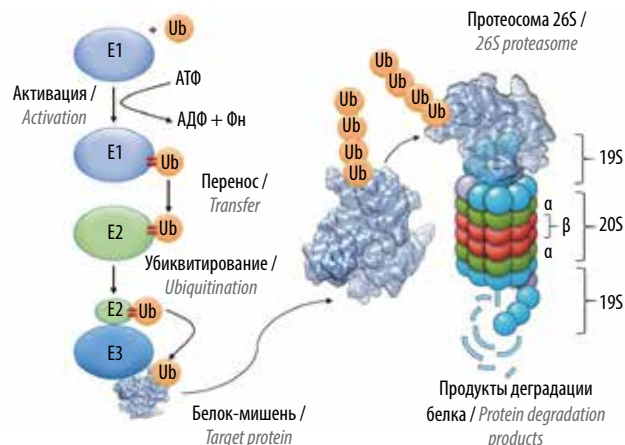


Рис. 1. Схема убиквитинзависимой системы деградации белков. Убиквитин (Ub) последовательно переносится с убиквитинактивирующего фермента E1 на убиквитинконъюгирующий фермент E2 и далее с помощью убиквитинлигазы E3 на белок-мишень. Две красные черты обозначают тиолэфирную связь. Протеасома 26S состоит из цилиндрической субъединицы 20S и 2 направляющих крышек 19S. Убиквитинированный белок-мишень распознается одной из субъединиц 19S протеасомы и перемещается внутрь цилиндра 20S, где подвергается протеолитической деградации каталитическими локусами внутри β-колец. АТФ — аденозинтрифосфат; АДФ + Фн — аденозиндифосфат + фосфат неорганический

Fig. 1. Ubiquitin-dependent protein degradation pathway. Ubiquitin is sequentially transferred from ubiquitin-activating enzyme E1 to ubiquitinconjugating enzyme E2 and then to the target protein through ubiquitin ligase E3. Two red dashes represent thioether bond. Proteasome 26S consists of a 20S cylindrical subunit and 2 19S regulatory caps. Ubiquitinated target protein is recognized by one of the 19S subunits of the proteasome and is moved inside the 20S cylinder where it is proteolytically degraded by catalytic loci inside β-rings. ATP — adenosine triphosphate; ADP + P — adenosine diphosphate + phosphate

аденозинтрифосфата. Далее убиквитин переносится на тиоловую группу убиквитинконъюгирующего фермента E2. На конечном этапе убиквитинлигаза E3 переносит убиквитин к остатку лизина белка-мишени [9].

В клетках человека существует 2 энзима E1 и около 40 отдельных ферментов E2, определяющих тип добавляемой убиквитиновой цепи и более 700 отличающихся друг от друга убиквитинлигаз E3, которые обеспечивают специфичность к различным субстратам и подразделяются, в свою очередь, на 2 основных семейства – NECT и RING. Помимо ферментов, отвечающих за убиквитирование, существуют молекулы с обратным действием, которые важны для созревания, регуляции и рециркуляции убиквитина [7, 8].

Как показано на рис. 1, протеасома 26S состоит из 2 субъединиц 19S и одной 20S. Регуляторные частицы 19S накрывают с обеих сторон цилиндрическое ядро 20S. Белки, несущие полиубиквитированную цепь, распознаются субъединицей 19S и распадаются на мелкие фрагменты непосредственно внутри субъединицы 20S. Четыре высокомолекулярных кольца, которые составляют ядро 20S, окружают центральную каталитическую камеру с активными протеолитическими центрами. Каждое кольцо содержит 7 α - или β -субъединиц, расположенных друг над другом в порядке « α - β - β - α ». Два внешних α -кольца формируют отверстие, через которое могут проходить только белки с нарушенной конформационной структурой. Два центральных β -кольца содержат 3 каталитических центра, которые кооперированно работают над разрушением белка-мишени. Каждое из двух β -колец содержит центр с каспазоподобной (CL) в β 1-субъединице, трипсиноподобной (TL) в β 2-субъединице и с химотрипсиноподобной активностью (CT-L) в β 5-субъединице [10]. Протеасому 26S часто называют конституциональной (β 1c, β 2c и β 5c). В лимфоидных и гемопоэтических клетках в небольшом количестве присутствует альтернативная форма протеасомы, получившая название иммунопротеасомы. Она также содержит 3 субъединицы (β 1i, β 2i и β 5i), гомологичные таковым протеасомы 26S. Функция иммунопротеасомы заключается в поддержании антигенного репертуара главного комплекса гистосовместимости класса I [11].

В качестве примера, с помощью протеасомы 26S осуществляется регуляция внутриклеточной концентрации NF- κ B (nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells), являющегося универсальным фактором транскрипции, контролирующим экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и прохождения клеточного цикла. NF- κ B конституционально присутствует в цитоплазме и инактивируется соответствующим ингибитором I κ B. При активации, например в результате действия отдельных цитокинов, происходит фосфорилирование ингибитора I κ B, который впоследствии расщепляется протеасомой 26S. В результате этого события NF- κ B освобождается от I κ B,

переносится в ядро и активирует транскрипцию контролируемых генов. Ингибирование протеасомы, например с помощью бортезомиба, увеличивает доступность I κ B в цитоплазме, что приводит к ингибированию NF- κ B и нарушению одного из антиапоптотических механизмов выживания миеломных клеток [12].

Клональные плазматические клетки обычно имеют повышенный уровень протеасомной активности по сравнению с нормальными и более чувствительны к проапоптотическим эффектам в результате ингибирования протеасомы. Протеасома 26S и иммунопротеасома считаются важной терапевтической мишенью, а их ингибирование – базовым методом лечения ММ [10, 12].

Бортезомиб (Велкейд) – первый ингибитор протеасомы, вошедший в клиническую практику

В 2005 г. были опубликованы первые результаты многоцентрового исследования III фазы APEx, в котором рандомизированы 669 пациентов с рецидивирующей ММ (1–3-й линии терапии в анамнезе). Пациенты получали монотерапию бортезомибом или высокие дозы дексаметазона. Как минимум частичного ответа (\geq particular response (PR)) достигли 38 % больных в группе бортезомиба и 18 % больных в группе дексаметазона ($p < 0,001$), полного ответа (complete response (CR)) – 6 и 1 % пациентов соответственно ($p < 0,001$). Медиана выживаемости до прогрессирования (ВБП) составила 6,2 и 3,5 мес (отношение рисков (ОР) 0,55; $p < 0,001$). Однолетняя ОВ – 80 и 66 % (ОР 0,57; $p = 0,001$) [13].

Через 3 года после данного исследования были опубликованы результаты протокола VISTA, в котором пациенты с впервые диагностированной ММ, не рассматриваемые в качестве кандидатов для ауто-ТГСК, получали бортезомиб в комбинации с мелфаланом и преднизолоном (VMP) либо исходную комбинацию мелфалана и преднизолона (MP). Достигли ответа \geq PR 71 % пациентов в группе VMP против 35 % в группе MP ($p < 0,001$). Медиана ВБП составила 24,0 и 16,6 мес соответственно (ОР 0,48; $p < 0,001$) [14].

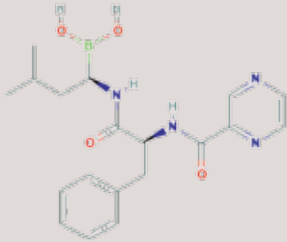
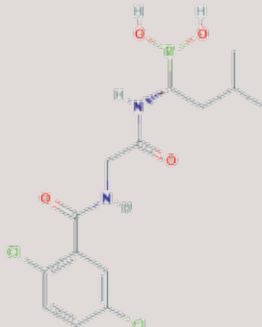
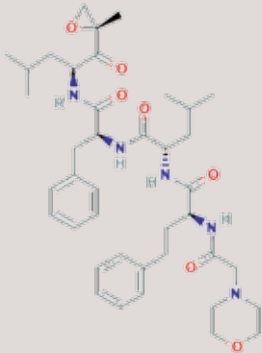
В последующем на основе бортезомиба было сконструировано большое количество схем терапии ММ, включая комбинации с даратумумабом (Dara-Vd) [15] и помалидомидом (PVd) [16]. Важно отметить, что, несмотря на переход с внутривенного на подкожный способ введения бортезомиба, дозолимитирующей кумулятивной токсичностью данного препарата по-прежнему остается периферическая нейропатия, препятствующая его длительному применению [17].

Новые ингибиторы протеасомы, одобренные для клинической практики

Новые генерации ИП имеют различную химическую структуру, фармакокинетические и фармакодинамические характеристики (табл. 1) [18–21]. Как результат, расширяется клиническое применение препаратов этого класса в лечении ММ.

Таблица 1. Сравнительная характеристика ингибиторов протеасомы, одобренных для клинической практики

Table 1. Comparative characteristics of proteasome inhibitors approved for clinical practice

| Характеристика Characteristic | Бортезомиб (Велкейд) [18] Bortezomib (Velcade) [18] | Иксазомиб (Нинларо) [19] Ixazomib (Ninlaro) | Карфилзомиб (Кипролис) [20, 21] Carfilzomib (Kiprolis) [20, 21] |
|--|--|---|--|
| Разработчик Developer | Janssen/Takeda | Takeda | Amgen |
| Формула Formula |  |  |  |
| Структурный класс Structural class | Производное борной кислоты Boronic acid derivative | Производное борной кислоты Boronic acid derivative | Производное эпоксимицина Epoxomicin derivative |
| Связь с протеасомой и полупериод диссоциации Proteasome binding and dissociation half-life | Обратимая, 110 мин Reversible, 110 min | Обратимая, 18 мин Reversible, 18 min | Необратимая Irreversible |
| IC ₅₀ для β5-/β2-/β1-субъединиц протеасомы 20S, нмоль IC ₅₀ for β5-/β2-/β1-subunits of 20S proteasome, nmol | 2,4–7,9/590–4200/24–74 | 3,4/3500/31 | 6/3600/2400 |
| Способ введения Administration route | Внутривенный и подкожный Intravenous and subcutaneous | Оральный Oral | Внутривенный Intravenous |
| Пролекарство Prodrug | Нет No | Да (MLN9708 подвергается гидролизу до активного вещества MLN2238) Yes (MLN9708 is hydrolyzed to active compound MLN2238) | Нет No |
| Частота тяжелой периферической нейропатии Rate of severe peripheral neuropathy | Высокая High | Низкая Low | Низкая Low |
| Терапевтические показания Therapeutic indications | Впервые диагностированная и рецидивирующая и/или рефрактерная множественная миелома Newly diagnosed and relapsed and/or refractory multiple myeloma | Рецидивирующая и/или рефрактерная множественная миелома Relapsed and/or refractory multiple myeloma | Рецидивирующая и/или рефрактерная множественная миелома Relapsed and/or refractory multiple myeloma |
| Дата регистрации в России Date of registration in Russia | 06.08.2005 | 19.10.2017 | 29.03.2016 |
| Входит в список жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов в России Is on the Vital and Essential Drugs List | Да Yes | Нет No | Да Yes |

Карфилзомиб

Карфилзомиб (Кипролис, Amgen) представляет собой тетрапептидный эпоксикетон, производное эпоксимицина, который необратимо связывается, причем с существенно большей аффинностью, чем бортезомиб с субъединицей $\beta 5c$ протеасомы 26S и $\beta 5i$ иммунопротеасомы. Вследствие своей белковой природы карфилзомиб может подвергаться деградации с помощью эндогенных протеаз, которые несколько понижают его активность (приблизительно на 20 %). После связывания карфилзомиба с протеасомой ее работоспособность восстанавливается только в результате синтеза и сборки новых комплексов 26S и иммунопротеасомы [20].

Пациенты с рефрактерностью к бортезомибу и леналидомиду. В исследовании PX-171-003-A1 (II фаза) 266 пациентов с рецидивирующей и рефрактерной ММ получали карфилзомиб в качестве моноагента. Карфилзомиб назначали в виде 2–10-минутной инфузии в стандартные дни 1, 2, 8, 9, 15 и 16 каждого 28-дневного цикла. Предполагалось проводить максимально 12 циклов. Доза препарата составляла 20 мг/м² для 1-го цикла и 27 мг/м² для всех последующих. Важно, что это были сильно предлеченные пациенты с медианой линий терапии в анамнезе 5. Почти все пациенты ранее получали бортезомиб (99,6 %), в результате чего 73 % больных были к нему резистентными хотя бы в одной из линий терапии, а 45 % – непосредственно перед применением карфилзомиба. В общей сложности 80 % пациентов были рефрактерными или не переносили как бортезомиб, так и леналидомид. Ответ \geq PR был получен в 23,8 % случаев, в том числе у 18,2 % пациентов с рефрактерностью к бортезомибу в последней линии и у 15,4 % с «двойной» рефрактерностью. Медиана ВБП составила 3,7 мес, ОВ – 15,6 мес. Нежелательные явления в основном были представлены слабостью, анемией, тошнотой и тромбоцитопенией. Периферическая нейропатия наблюдалась у 12,4 % пациентов [22].

В открытом рандомизированном исследовании III фазы FOCUS было выполнено сравнение монотерапии карфилзомибом (27 мг/м²) с терапией низкими дозами кортикостероидов + циклофосфида (по решению врача) у пациентов с рецидивирующей и рефрактерной ММ. Медиана ОВ как первичная конечная точка была сходной и составила 10,2 и 10,0 мес в группах карфилзомиба и контроля соответственно (ОР 0,98; $p = 0,42$). Пациенты в этом исследовании также были сильно предлеченными с 5 линиями терапии в анамнезе [23].

Другие результаты были получены в другом рандомизированном исследовании III фазы A.R.R.O.W. [24]. Протокол преследовал цель изучения возможности введения карфилзомиба 1 раз в неделю, что комфортнее для пациента и лечебного учреждения. В исследовании были рандомизированы 478 пациентов с рецидивирующей и рефрактерной ММ, которые

имели в анамнезе 2 или 3 линии предшествующей терапии, включая применение ИП и IMiD. Рефрактерными к бортезомибу были 42 %, к леналидомиду – 84 % пациентов. Рандомизацию проводили в соотношении 1:1 на терапию карфилзомибом 1 раз в неделю (70 мг/м², группа Kd70) или стандартно 2 раза в неделю (27 мг/м², группа Kd27) в комбинациях с низкими дозами дексаметазона. Лечили до прогрессирования или недопустимой токсичности.

Ответы \geq PR достигли 62,9 % пациентов в группе Kd70 и 40,8 % в группе Kd27 (ОР 2,49; $p < 0,0001$); очень хорошего частичного ответа (\geq very good partial response (VGPR)) – 34 и 13 % и \geq CR – 7 и 2 % соответственно. Медиана ВБП оказалась лучше в группе Kd70, чем Kd27 (11,2 мес против 7,6 мес; ОР 0,69; $p = 0,0029$) (рис. 2). Важно, что преимущество схемы Kd70 над Kd27 отчетливо продемонстрировано для пациентов с рефрактерностью как к бортезомибу (ОР 0,73; 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,57–1,05), так и к леналидомиду (ОР 0,76; 95 % ДИ 0,58–0,99) (рис. 3). Медианы ОВ при текущем сроке наблюдения около 12 мес не достигнуты. Наиболее частыми нежелательными явлениями (\geq III степени тяжести) были анемия (по 18 %), пневмония (10 и 7 %), тромбоцитопения (по 7 %), нейтропения (6 и 7 %) и артериальная гипертензия (6 и 5 %). Частота таргетных для карфилзомиба нежелательных явлений (\geq III степени тяжести), включая сердечную недостаточность (2,9 и 4,3 %), ишемическую болезнь сердца (ИБС) (0,84 и 0,85 %) и острое повреждение почек (0 и 0,43 %), была низкой в обеих группах. Риск развития сепсиса был выше в группе Kd70 (2,6 % против 1,3 %) [24].

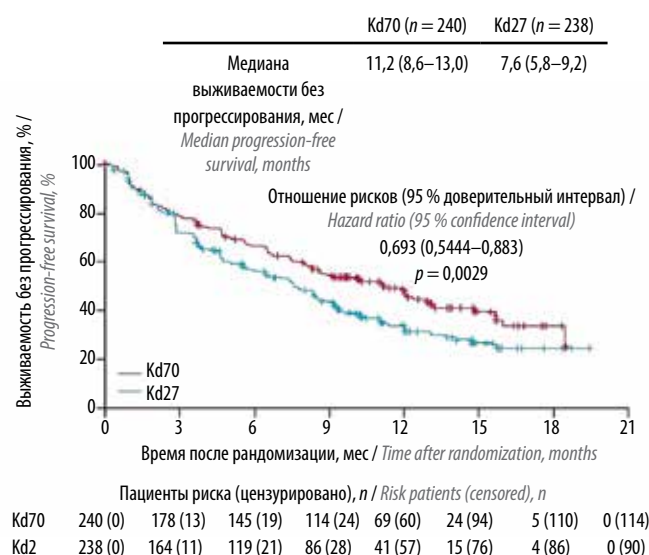


Рис. 2. Выживаемость без прогрессирования в исследовании A.R.R.O.W. (адаптировано из [24]). Kd70 – терапия карфилзомибом в дозе 70 мг/м² 1 раз в неделю; Kd27 – терапия карфилзомибом в дозе 27 мг/м² 2 раза в неделю
 Fig. 2. Progression-free survival in the A.R.R.O.W. trial (adapted from [24]). Kd70 is carfilzomib therapy at 70 mg/m² once a week; Kd27 – carfilzomib therapy at 27 mg/m² twice a week

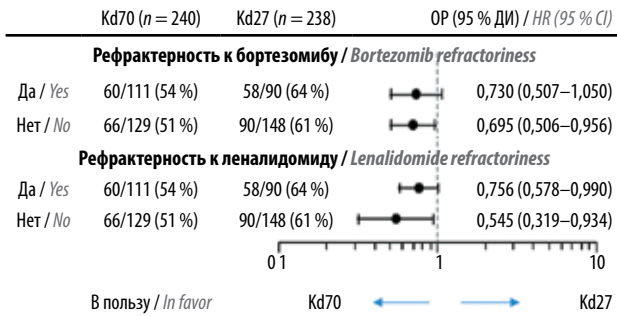


Рис. 3. Выживаемость без прогрессирования в группах пациентов с предшествующей резистентностью к ингибиторам протеасомы и иммуномодуляторам в исследовании A.R.R.O.W. (адаптировано из [24]). Рефрактерность трактовалась как прогрессирование непосредственно на фоне терапии или в пределах 60 дней после ее окончания. Kd70 – терапия карфилзомибом в дозе 70 мг/м² 1 раз в неделю; Kd27 – терапия карфилзомибом в дозе 27 мг/м² 2 раза в неделю; ОР – отношение рисков; ДИ – доверительный интервал

Fig. 3. Progression-free survival in patient groups with previous resistance to proteasome inhibitors and immunomodulators in the A.R.R.O.W. trial (adapted from [24]). Refractoriness was treated as progression during therapy or in 60 days after its end. Kd70 is carfilzomib therapy at 70 mg/m² once a week; Kd27 – carfilzomib therapy at 27 mg/m² twice a week; HR – hazard ratio; CI – confidence interval

В целом режим введения карфилзомиба 1 раз в неделю (70 мг/м²) выглядит как более эффективный, чем стандартный (27 мг/м²). Профиль нежелательных явлений сопоставим. Возможно, Kd70 действительно преодолевает резистентность к бортезомибу и леналидомиду у пациентов с рецидивирующей и рефрактерной ММ внутри класса ИП.

Как изолированный агент карфилзомиб рекомендуется для пациентов с рецидивирующей и рефрактерной ММ, которые получили по крайней мере 2 линии предшествующей терапии, включая бортезомиб и любую IMiD [1, 22].

Пациенты с рецидивирующей ММ без рефрактерности к бортезомибу или леналидомиду. В открытом исследовании III фазы ASPIRE были рандомизированы 792 пациента с рецидивирующей ММ (1–3-й линии терапии в анамнезе). Больные получали либо комбинацию KRd (карфилзомиб, леналидомид, дексаметазон), либо только Rd (леналидомид, дексаметазон). Карфилзомиб назначали в стандартные дни, начиная с дозы 20 мг/м² (первые 2 введения) и далее по 27 мг/м². С 13-го цикла не вводили в дни 8 и 9, а после 18-го цикла отменяли его вовсе, продолжая только схему Rd до прогрессирования или неприемлемой токсичности. В группе KRd достигли ответа 87,1 % пациентов против 66,7 % в группе Rd, включая CR в 31,8 и 9,3 % случаев соответственно. Медиана ВБП составила 26,3 и 17,6 мес соответственно (ОР 0,69; $p = 0,0001$) [25]. Медиана ОВ – 48,3 и 40,4 мес (ОР 0,79; $p = 0,0045$). Частота таргетных нежелательных явлений (\geq III степени тяжести), включая острое повреждение почек (3,8 и 3,3 %), сердечную недостаточность (4,3 и 2,1 %), ИБС (3,8 и 2,3 %), артериальную гипертензию (6,4 и 2,3 %), тромбоцитопению

(20,2 и 14,9 %) и периферическую нейропатию (2,8 и 3,1 %), была сходной в обеих группах [26].

В другом исследовании III фазы ENDEAVOR выполнено прямое сравнение карфилзомиба в дозе 56 мг/м² (группа Kd56) и бортезомиба (группа Vd) в комбинации с дексаметазоном у пациентов с рецидивирующей ММ (1–3-й линии терапии в анамнезе). Терапию проводили до прогрессирования или неприемлемой токсичности. В группе Kd56 медиана ВБП составила 18,7 мес, в группе Vd – 9,4 мес (ОР 0,53; $p = 0,0001$). Медиана ОВ также была выше в группе с карфилзомибом и достигла 47,6 мес против 40,0 мес в группе Vd (ОР 0,79; $p = 0,010$). Самыми частыми нежелательными явлениями (\geq III степени тяжести) были анемия (16 и 10 %), артериальная гипертензия (15 и 3 %), тромбоцитопения (по 9 %), пневмония (по 9 %) и периферическая нейропатия (1 и 6 %) [4]. Подгрупповой анализ исследований ENDEAVOR и ASPIRE показал значительное увеличение ВБП в группах с карфилзомибом как для высокого, так и стандартного цитогенетического риска [4, 25].

На основании этих исследований Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США одобрило показания для карфилзомиба в комбинации со схемой Rd или только с дексаметазоном для терапии пациентов с рецидивирующей ММ, которые получили как минимум 1 линию терапии [1, 4, 25].

Пациенты с впервые диагностированной ММ. В исследовании III фазы CLARION сравнили карфилзомиб (36 мг/м²) и бортезомиб в комбинациях со схемой MR (мелфалан, преднизолон) у пациентов с впервые диагностированной ММ, которые не рассматривались как кандидаты для ауто-ТГСК (группа KMP против группы VMP). Всего были рандомизированы 955 пациентов. Неожиданным и разочаровывающим оказалось то, что в этом исследовании не произошло увеличения выживаемости. Медиана ВБП в группе KMP составила 22,3 мес, в группе VMP – 22,1 мес (ОР 0,9; $p = 0,159$). Медианы ОВ также не различались (ОР 1,08; 95 % ДИ 0,82–1,43). Профиль безопасности был сопоставим с таковым в предыдущих исследованиях с относительным риском сердечно-сосудистой токсичности в группе KMP и большей частотой периферической нейропатии в группе VMP [27].

Эффективность комбинации KRd у пациентов с впервые диагностированной ММ, кандидатов для ауто-ТГСК, была детально изучена в 2 исследованиях.

Дизайн исследования II фазы ($n = 76$) предусматривал 4 цикла KRd (карфилзомиб в дозе 36 мг/м²), сбор стволовых клеток с помощью гранулоцитарного колониестимулирующего фактора и плериксофора, введение высокодозного мелфалана (200 мг/м²), одну ауто-ТГСК, 4 консолидации KRd, 10 курсов поддерживающей терапии KRd и далее применение леналидомида в монорежиме до прогрессирования

или неприемлемой токсичности. После окончания консолидации (суммарно 8 циклов KRd) \geq VGPR достигли 96 %, \geq CR 73 % пациентов и строгого полного ответа (stringent complete response, sCR) – 69 %. При медиане наблюдения 17,5 мес 2-летней ВБП и ОВ составила 97 и 99 % соответственно. Самыми частыми нежелательными явлениями (\geq III степени тяжести) были лимфопения (28 %), нейтропения (18 %) и инфекции (8 %). У 2 пациентов имело место бессимптомное снижение фракции выброса левого желудочка до 45–50 % [28].

В исследовании III фазы FORTE были рандомизированы 494 пациента с впервые диагностированной ММ моложе 65 лет, кандидаты для ауто-ТГСК. Пациенты получали 1 из 3 видов терапии: А) 4 цикла индукции КСd (карфилзомиб, циклофосфамид, дексаметазон), ауто-ТГСК и 4 цикла консолидации КСd; В) 4 цикла индукции KRd, ауто-ТГСК и 4 цикла консолидации KRd; С) 12 циклов KRd без трансплантации. Карфилзомиб назначали в дозе 36 мг/м² в стандартные дни. После окончания указанной программы пациентов рандомизировали 2-й раз на поддерживающую терапию с помощью леналидомида или на комбинации KR (карфилзомиб, леналидомид). После ауто-ТГСК (группы А и В) или 8 циклов KRd (группа С) частота \geq VGPR составила 66, 81 и 85 % соответственно, включая 15, 23 и 30 % sCR. Перед поддерживающей терапией частота sCR увеличилась до 32, 44 и 43 % соответственно. Отрицательный результат минимальной остаточной болезни с помощью проточной цитометрии (10^{-5}) был подтвержден в 42, 58 и 54 % случаев соответственно (рис. 4) [29]. Собрать более 4×10^6 /кг стволовых клеток периферической крови удалось у 97 % пациентов после индукции КСd и у 88 % – KRd ($p = 0,002$). Потребность в применении плериксофора закономерно была выше на фоне терапии с леналидомидом (28 % против 6 %; $p < 0,001$) [30].

Сердечно-сосудистые нежелательные явления. Риск кардиотоксичности, ассоциируемый с применением карфилзомиба, требует отдельного обсуждения. В 2018 г. был опубликован анализ данных 2607 пациентов с рецидивирующей и/или рефрактерной ММ, участвовавших в 8 проспективных исследованиях. Частота возникновения или утяжеление ранее имевшего место заболевания (все степени тяжести) хронической сердечной недостаточности и ИБС, связанного с применением карфилзомиба, составила 5,5 % (95 % ДИ 4,3–6,9 %) и 2,7 % (95 % ДИ 1,1–6,7 %) соответственно. Относительный риск кардиотоксичности не коррелирует с длительностью терапии, но может зависеть от дозы и скорости введения препарата [31]. Пациентам, получающим карфилзомиб, рекомендуется регулярный мониторинг кардиологических жалоб и симптомов, включая контроль хронической сердечной недостаточности, ИБС и артериальной гипертензии. В случае кардиологических осложнений III–IV степеней тяжести следует

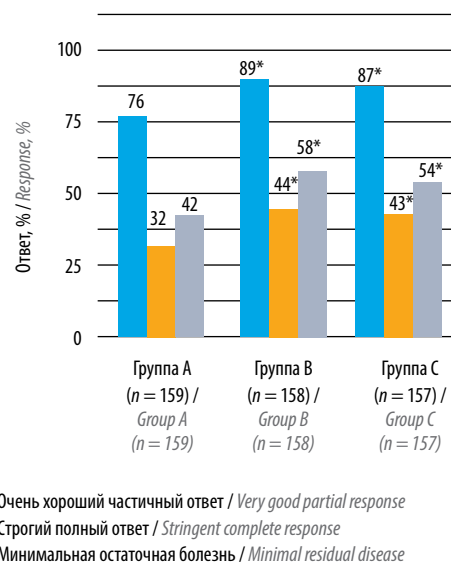


Рис. 4. Частота ответа у пациентов с впервые диагностированной множественной миеломой ($n = 494$) в исследовании FORTE. Ответ оценен перед рандомизацией на поддерживающую терапию (группы А и В) после индукции, аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и консолидации или (группа С) после 12 циклов KRd (карфилзомиб, леналидомид, дексаметазон). * $p < 0,05$ по сравнению с группой А (адаптировано из [29])

Fig. 4. Response rate in patients with newly diagnosed multiple myeloma ($n = 494$) in the FORTE trial. Response was evaluated prior to randomization for maintenance therapy (groups A and B) after induction, autologous transplantation of hematopoietic stem cells and consolidation or (group C) after 12 cycles of KRd (carfilzomib, lenalidomide, dexamethasone). * $p < 0.05$ compared to group A (adapted from [29])

остановить терапию карфилзомибом и дождаться, пока нежелательные явления не разрешатся, затем терапия может быть возобновлена в сниженной дозе. Пациенты с кардиологическим анамнезом и лица пожилого возраста должны перед назначением карфилзомиба обсуждаться прицельно [32].

Иксазомиб

Иксазомиб (Нинларо, Takeda) является оральным ИП, относящимся к производным борной кислоты, который обратимо и селективно ингибирует преимущественно $\beta 5$ - и $\beta 1$ -субъединицы протеасомы [19]. Препарат представляет собой цитрат (MLN9708), который быстро подвергается гидролизу в жидкой среде и переводит иксазомиб в активную форму (MLN2238). Полупериод диссоциации от протеасомы 26S короче, чем у бортезомиба (18 мин против 110 мин), что привело к улучшению фармакокинетического и фармакодинамического профиля препарата [33]. В доклинических исследованиях было показано, что иксазомиб преодолевает резистентность к бортезомибу на соответствующих клеточных линиях [34].

В двойное слепое плацебо-контролируемое исследование III фазы TOURMALINE-MM1 были включены 722 пациента с рецидивирующей ММ, ранее получившие от 1 до 3 линий терапии. Пациентов рандомизировали на лечение иксазомибом

Таблица 2. Эффективность комбинации IRd (иксазомиб, леналидомид, дексаметазон) в зависимости от цитогенетического статуса

Table 2. Effectiveness of IRd (ixazomib, lenalidomide, dexamethasone) combination depending on cytogenetic status

| Характеристика пациентов Patient characteristics | Медиана выживаемости без прогрессирования, мес Median progression-free survival, months | | Отношение рисков Hazard ratio |
|---|--|--|----------------------------------|
| | IRd | плацебо + Rd (леналидомид, дексаметазон) placebo + Rd (lenalidomide, dexamethasone) | |
| Стандартный риск (n = 415) Standard risk (n = 415) | 20,6 | 15,6 | 0,640 |
| Высокий риск (n = 137) High risk (n = 137) | 21,4 | 9,7 | 0,543 |
| del (17p) ≥20 % (n = 59)* | 21,4 | 6,7 | 0,611 |
| del (17p) ≥60 % (n = 33)* | 15,7 | 5,1 | 0,490 |
| t(4;14) ≥10 % (n = 59) | 18,5 | 12,0 | 0,444 |
| Всего (n = 722) Total (n = 722) | 20,6 | 14,7 | 0,742 |

Примечание. Изолированная del (17p) или в комплексе с t(4;14) и/или t(14;16).

Note. Isolated del (17p) or in complex with t(4;14) and/or t(14;16).

в комбинации с леналидомидом и дексаметазоном (IRd) либо плацебо + Rd. Медиана ВВП в группе IRd составила 20,6 мес, в группе плацебо + Rd – 14,7 мес (ОР 0,74; $p = 0,01$), частота всех ответов – 78,3 и 71,5 % соответственно ($p = 0,04$). Медиана ОВ при текущем сроке наблюдения не достигнута. Популяция пациентов с высоким цитогенетическим риском получила значимую пользу от триплета IRd, продемонстрировав медиану ВВП 21,4 мес по сравнению с 9,7 мес в группе плацебо + Rd (ОР 0,54; $p = 0,02$). Преимущество в выживаемости отмечено у пациентов как с del (17p), так и с t(4;14). Особенно важно, что медиана ВВП в группе высокого риска оказалась идентичной таковой в группе стандартного цитогенетического риска (21,4 и 20,6 мес) (табл. 2) [35].

Основными нежелательными явлениями иксазомиба были тромбоцитопения, нейтропения, слабость, тошнота и диарея. Периферическая нейропатия любой степени тяжести наблюдалась у 27 % пациентов в группе IRd и у 22 % больных в группе плацебо + Rd, но лишь у 2 % пациентов в каждой группе развилось осложнение III степени. Качество жизни, связанное со здоровьем, было идентичным в обеих группах [36]. На основании представленных данных иксазомиб был одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США для использования в комбинации с Rd у пациентов с рецидивирующей ММ, которые получили по крайней мере 1 линию терапии [1, 36].

В двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании III фазы TOURMALINE-MM3 после стандартной индукции, введения мелфалана в дозе 200 мг/м² и одной ауто-ТГСК были рандомизированы 656 пациентов с впервые диагностированной ММ. Больные получали поддерживающую

терапию иксазомибом или плацебо. При медиане наблюдения 31 мес отмечена редукция риска прогрессирования ММ или смерти на 28 % в группе иксазомиба (медиана ВВП 26,5 мес против 21,3 мес; ОР 0,72; $p = 0,0023$) [37].

Одобрённые в России схемы лечения на основе ИП 2-го поколения представлены в табл. 3.

Маризониб, опрозомиб и деланзомиб

Новые препараты (маризониб, опрозомиб, деланзомиб) прошли доклиническое тестирование и находятся на ранних фазах клинических исследований.

Маризониб (Celgene) представляет собой оральный небелковый необратимый ИП, структурно являющийся β-лактоном, получаемым из морских бактерий *Salinispora tropica* и *Salinispora arenicola*. Он необратимо связывается сразу со всеми 3 каталитическими субъединицами (β1, β2 и β5) протеасомы и иммунопротеасомы. В исследовании I фазы были продемонстрированы относительно низкая токсичность, отсутствие нейротоксичности и риска развития тромбоцитопении. В дозэскалационном исследовании с участием 35 пациентов с рецидивирующей и рефрактерной ММ проводили монотерапию маризонибом. Из 15 пациентов, получивших финальную дозу препарата, 3 больных с резистентностью к бортезомибу достигли PR и 1 – VGPR [38]. С помощью комбинации маризониба с помалидомидом и дексаметазоном удалось добиться ≥PR у 53 % (19 из 36) сильно предлеченных рефрактерных пациентов с ММ [39].

Опрозомиб (Amgen) является оральным необратимым ИП, производным карфилзомиба, который продемонстрировал близкую к исходному препарату цитотоксичность на клеточных культурах. В исследованиях I/II фазы опрозомиб показал хороший

Таблица 3. Схемы лечения множественной миеломы с ингибиторами протеасомы 2-го поколения, одобренные в России (по состоянию на май 2019)

Table 3. Multiple myeloma treatment regimens with 2nd generation proteasome inhibitors approved in Russia (as of May 2019)

| Схема терапии Therapy regimen | Клинические показания Clinical indications |
|---|--|
| Карфилзомиб 27 мг/м ² внутривенно за 10 мин в дни 1, 2, 8, 9, 14 и 15 (циклы 1–12), далее в дни 1, 2, 15 и 16 (циклы 13+). Цикл – 28 дней Carfilzomib 27 mg/m ² intravenously in 10 min at days 1, 2, 8, 9, 14 and 15 (cycles 1–12), then at days 1, 2, 15 and 16 (cycles 13+). 28-day cycle | Пациенты с рецидивирующей и рефрактерной множественной миеломой, получившие минимум 2 линии предыдущей терапии, включая бортезомиб и иммуномодулятор Patients with relapsed and refractory multiple myeloma who received at least 2 lines of previous therapy including bortezomib and an immunomodulator |
| Карфилзомиб 27 мг/м ² внутривенно за 10 мин в дни 1, 2, 8, 9, 14 и 15 (циклы 1–12), далее в дни 1, 2, 15 и 16 (циклы 13–18). Леналидомид 25 мг внутрь в дни 1–21. Дексаметазон 40 мг (20 мг) внутрь в дни 1, 8, 15 и 22. Цикл – 28 дней Carfilzomib 27 mg/m ² intravenously in 10 min at days 1, 2, 8, 9, 14 and 15 (cycles 1–12), then at days 1, 2, 15 and 16 (cycles 13–18). Lenalidomide 25 mg per os at days 1–21. Dexamethasone 40 mg (20 mg) per os at days 1, 8, 15 and 22. 28-day cycle | Пациенты с рецидивирующей множественной миеломой, получившие минимум 1 линию предшествующей терапии Patients with relapsed multiple myeloma who received at least 1 line of previous therapy |
| Карфилзомиб 56 мг/м ² внутривенно за 30 мин в дни 1, 2, 8, 9, 14 и 15. Дексаметазон 20 мг внутрь в дни 1, 2, 8, 9, 15, 16, 22 и 23. Цикл – 28 дней Carfilzomib 56 mg/m ² intravenously in 30 min at days 1, 2, 8, 9, 14 and 15. Dexamethasone 20 mg per os at days 1, 2, 8, 9, 15, 16, 22 and 23. 28-day cycle | |
| Иксазомиб 4 мг внутрь в дни 1, 8 и 15. Леналидомид 25 мг внутрь в дни 1–21. Дексаметазон 40 мг внутрь в дни 1, 8, 15 и 22. Цикл – 28 дней Ixazomib 4 mg per os at days 1, 8 and 15. Lenalidomide 25 mg per os at days 1–21. Dexamethasone 40 mg per os at days 1, 8, 15 and 22. 28-day cycle | |

Примечание. Первые 2 введения карфилзомиба в любых схемах проводятся в дозе 20 мг/м² во избежание развития синдрома острого лизиса опухоли.

Note. The first 2 administrations of carfilzomib are performed at dose 20 mg/m² in all regimens to prevent acute tumor lysis syndrome.

профиль безопасности и низкий риск периферической нейропатии. Дозолимитирующей токсичностью оказалась диарея [40].

Деланзомиб (Cephalon) – еще один оральный обратимый ИП, производное борной кислоты. У мышей на модели перевиваемой миеломы, деланзомиб в эквивалентных дозах по отношению к нормальным тканям показал более высокую степень ингибирования β5-/β1-субъединиц протеасомы (86 %) по сравнению с бортезомибом (48 %) [41]. Однако в клиническом исследовании I/II фазы у сильно предлеченных пациентов с ММ ответ удалось получить лишь в 9 % случаев. Дальнейшие исследования при ММ было решено остановить и переориентироваться на солидные опухоли [42].

Обоснование применения ингибиторов протеасомы 2-го поколения при рефрактерности к бортезомибу

В идеальной ситуации выбор терапии рецидивирующей и рефрактерной миеломы должен

проводиться с учетом биологии, клональной гетерогенности и генетической нестабильности опухоли, характера рецидива и известной рефрактерности к отдельным препаратам или классам лекарств, применявшихся на предыдущих этапах. Одним из нерешенных вопросов остается понимание возможности преодоления резистентности внутри классов ИП и IMiD.

По данным ранних клинических исследований карфилзомиба, лишь в самом первом из них PX-171-003-A1 (II фаза) было отмечено 18,2 % ответов у пациентов с рефрактерностью к бортезомибу в последней линии и 15,4 % в случае двойной рефрактерности [22]. В исследовании FOCUS (III фаза) у пациентов с рецидивирующей и рефрактерной ММ с медианой 5 линий предшествующей терапии не выявлено различий между монотерапией карфилзомибом и паллиативным лечением [23]. Причина неудачи, возможно, кроется именно в монотерапии, поскольку банальное

включение в противомиеломную комбинацию дексаметазона увеличивает вероятность ответа в 1,5–2,0 раза для большинства препаратов. С другой стороны, в исследовании CLARION (III фаза) не отмечено различий между схемами КМР и VMP у пациентов с впервые диагностированной ММ, не кандидатов для ауто-ТГСК [27]. Очевидно, что карфилзомиб в дозе 27 мг/м² со стандартным введением 2 раза в неделю, как делалось во всех перечисленных работах, сопоставим по эффективности с бортезомибом и, по всей видимости, рефрактерность преодолеть не может. В исследование иксазомиба TOURMALINE-MM1 пациентов с резистентностью к бортезомибу не включали, понимая бесполезность такой попытки [36].

Ситуация принципиально меняется при повышении дозы карфилзомиба. В протоколе ENDEAVOR карфилзомиб в дозе 56 мг/м² в стандартные дни 2 раза в неделю в комбинации с дексаметазоном (Kd56) показал увеличение по сравнению со схемой Vd по медиане как ВВП (18,7 мес против 9,4 мес), так и ОВ (47,6 мес против 40,0 мес) [4]. Несмотря на то что рефрактерность к бортезомибу в ENDEAVOR была критерием исключения, более высокая активность карфилзомиба очевидна.

Результаты исследования A.R.R.O.W. с карфилзомибом в дозе 70 мг/м² 1 раз в неделю в комбинации с дексаметазоном также свидетельствуют в пользу данной гипотезы. Преимущество схемы Kd (70 мг/м²) перед стандартной Kd (27 мг/м²) отчетливо продемонстрировано для пациентов с рефрактерностью как к бортезомибу (ОР 0,73; 95 % ДИ 0,57–1,05), так и к леналидомиду (ОР 0,76; 95 % ДИ 0,58–0,99) [24]. Эскалировать дозу иксазомиба выше стандартной дозы 4 мг в 1, 8 и 15-й дни цикла проблематично ввиду риска увеличения гастроинтестинальной токсичности и тромбоцитопении. Кроме этого, иксазомиб и бортезомиб являются производными борной кислоты, ингибирующими β5- и β1-субъединицы протеасомы, что обеспечивает им эквивалентную эффективность [43].

Обсуждаемая гипотеза дозозависимого действия карфилзомиба имеет определенное экспериментальное подтверждение. В частности, было показано, что для гибели миеломной клетки в процессе культивирования с любым из известных ИП недостаточно изолированного ингибирования β5-субъединицы протеасомы 26S и иммунопротеасомы, как предполагалось ранее [44]. Экспоненциальная гибель клеток ММ начиналась только при одновременном блокировании как минимум 2 субъединиц β5 и β1 или β5 и β2 (рис. 5). Исторически считается, что ингибирование β1- и β2-субъединиц протеасомы происходит при концентрациях ИП, превышающих таковую для β5 (см. табл. 1) [18–21]. В цитируемой работе 50 % ингибирование активности β5с/i происходило при концентрации бортезомиба 10 нмоль, карфилзо-

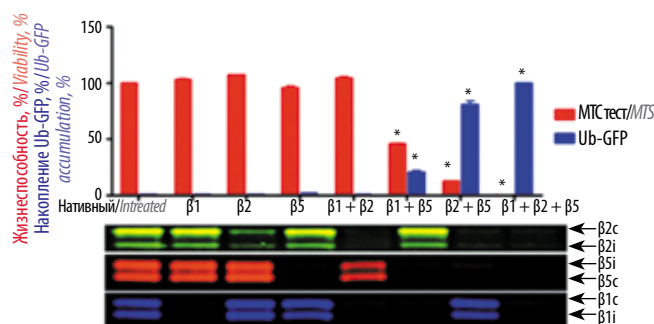


Рис. 5. Профиль ингибирования отдельных β-субъединиц протеасомы в клетках АМО-1 и накопление убиквитинированных белков (Ub-GFP), не подвергшихся протеасомной деградации (адаптировано из [44]). **p* < 0,0001 по сравнению с нативным образцом

Fig. 5. Inhibition profile of individual proteasome β-subunits in AMO-1 cells and accumulation of ubiquitinated proteins (Ub-GFP) which didn't undergo proteasomal degradation (adapted from [44]). **p* < 0,0001 compared to the native sample

миба 100 нмоль, иксазомиба 1000 нмоль [44]. Бортезомиб и иксазомиб коингибировали активность β1с/i (IC₅₀) почти в тех же или немного больших концентрациях, чем необходимо для ингибирования β5с/i. Карфилзомибу для коингибирования β2с/i требовалась концентрация как минимум в 3 раза выше, чем для выключения β5с/i. В цитостатических дозах карфилзомиб не влиял на активность β1с/i, а бортезомиб и иксазомиб – на β2с/i. Как видно из рис. 5, коингибирование субъединиц β5/β2 (карфилзомиб) обладает большим противопухолевым потенциалом, чем блокирование субъединиц β5/β1 (бортезомиб, иксазомиб). Возможно, что ИП, производные борной кислоты и эпоксимицина, за счет разного механизма воздействия на протеасому могут работать у пациентов, истративших ресурсы применения конкурирующего химического класса препаратов.

Заключение

Непосредственный механизм, определяющий противоопухолевый эффект ИП, заключается в одновременном блокировании субъединиц протеасомы β5с/i и β1с/i (бортезомиб, иксазомиб) и β5с/i и β2с/i (карфилзомиб).

- Карфилзомиб обладает дозозависимой активностью, позволяющей по крайней мере в максимальных дозах (Kd70) преодолевать рефрактерность к бортезомибу и леналидомиду.
- Активность иксазомиба сопоставима с таковой бортезомиба, но оральный способ назначения и отсутствие неврологической токсичности позволяют проводить длительную терапию в целях максимального контроля ММ.
- Схемы на основе ИП 2-го поколения (KRd, IRd и Kd) – новые стандарты лечения рецидивирующей и/или рефрактерной ММ, одобренные для применения в России.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Moreau P, San Miguel J, Sonneveld P et al. Multiple myeloma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2017;28(suppl_4): 52–61. DOI: 10.1093/annonc/mdx096.
- Лучинин А.С., Семочкин С.В., Минаев Н.В. и др. Эпидемиология множественной миеломы по данным анализа популяционного регистра Кировской области. *Онкогематология* 2017;12(3): 50–6. DOI: 10.17650/1818-8346-2017-12-3-50-56. [Luchinin A.S., Semochkin S.V., Minaeva N.V. et al. Epidemiology of multiple myeloma according to the Kirov region population registers. *Oncohematology* 2017;12(3):50–6. (In Russ.)].
- Скворцова Н.В., Поспелова Т.И., Ковынев И.Б. и др. Эпидемиология множественной миеломы в Новосибирске (Сибирский федеральный округ). *Клиническая онкогематология* 2019;12(1):86–94. DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-1-86-94. [Skvortsova N.V., Pospelova T.I., Kovynev I.B. et al. Epidemiology of multiple myeloma in Novosibirsk (Siberian Federal District). *Clinicheskaya Onkogematologiya = Clinical Oncohematology* 2019;12(1):86–94. (In Russ.)].
- Dimopoulos M.A., Goldschmidt H., Niesvizky R. et al. Carfilzomib or bortezomib in relapsed or refractory multiple myeloma (ENDEAVOR): an interim overall survival analysis of an open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2017;18(10):1327–37. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30578-8.
- Vincenz L., Jäger R., O'Dwyer M., Samali A. Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response: targeting the Achilles heel of multiple myeloma. *Mol Cancer Ther* 2013;12(6):831–43. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0782.
- Hershko A., Heller H., Elias S., Ciechanover A. Components of ubiquitin-protein ligase system. Resolution, affinity purification, and role in protein breakdown. *J Biol Chem* 1983;258(13):8206–14.
- Clague M.J., Urbé S. Ubiquitin: same molecule, different degradation pathways. *Cell* 2010;143(5):682–5. DOI: 10.1016/j.cell.2010.11.012.
- Roos-Mattjus P., Sistonen L. The ubiquitin-proteasome pathway. *Ann Med* 2004;36(4):285–95.
- Scheffner M., Nuber U., Huibregtse J.M. Protein ubiquitination involving an E1-E2-E3 enzyme ubiquitin thioester cascade. *Nature*. 1995;373(6509):81–3. DOI: 10.1038/373081a0.
- Zhuang J., Shirazi F., Singh R.K. et al. Ubiquitin-activating enzyme inhibition induces an unfolded protein response and overcomes drug resistance in myeloma. *Blood* 2019;133(14):1572–84. DOI: 10.1182/blood-2018-06-859686.
- Kimura H., Caturegli P., Takahashi M., Suzuki K. New Insights into the Function of the Immunoproteasome in Immune and Nonimmune Cells. *J Immunol Res* 2015;2015:541984. DOI: 10.1155/2015/541984.
- Fabre C., Mimura N., Bobb K. et al. Dual inhibition of canonical and noncanonical NF- κ B pathways demonstrates significant antitumor activities in multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 2012;18(17):4669–81. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0779.
- Richardson P.G., Sonneveld P., Schuster M.W. et al. Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Engl J Med* 2005;352(24):2487–98. DOI: 10.1056/NEJMoa043445.
- San Miguel J.F., Schlag R., Khuageva N.K. et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *N Engl J Med* 2008;359(9):906–17. DOI: 10.1056/NEJMoa0801479.
- Spencer A., Lentzsch S., Weisel K. et al. Daratumumab plus bortezomib and dexamethasone versus bortezomib and dexamethasone in relapsed or refractory multiple myeloma: updated analysis of CASTOR. *Haematologica*. 2018;103(12):2079–87. DOI: 10.3324/haematol.2018.194118.
- Richardson P.G., Oriol A., Beksac M. et al. Pomalidomide, bortezomib, and dexamethasone for patients with relapsed or refractory multiple myeloma previously treated with lenalidomide (OPTIMISMM): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2019;S1470-2045(19):30152–4. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30152-4.
- Mu S.D., Ai L.S., Qin Y., Hu Y. Subcutaneous versus intravenous bortezomib administration for multiple myeloma patients: a meta-analysis. *Curr Med Sci* 2018;38(1):43–50. DOI: 10.1007/s11596-018-1844-y.
- Tan C.R.C., Abdul-Majeed S., Cael B., Barta S.K. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of bortezomib. *Clin Pharmacokinet* 2019;58(2):157–68. DOI: 10.1007/s40262-018-0679-9.
- Gupta N., Hanley M.J., Xia C. et al. Clinical pharmacology of ixazomib: the first oral proteasome inhibitor. *Clin Pharmacokinet* 2019;58(4):431–49. DOI: 10.1007/s40262-018-0702-1.
- Khan M.L., Stewart A.K. Carfilzomib: a novel second-generation proteasome inhibitor. *Future Oncol* 2011;7(5):607–12. DOI: 10.2217/fon.11.42.
- Wang Z., Yang J., Kirk C. et al. Clinical pharmacokinetics, metabolism, and drug-drug interaction of carfilzomib. *Drug Metab Dispos* 2013;41(1):230–7. DOI: 10.1124/dmd.112.047662.
- Siegel D.S., Martin T., Wang M. et al. A phase 2 study of single-agent carfilzomib (PX-171-003-A1) in patients with relapsed and refractory multiple myeloma. *Blood* 2012;120(14):2817–25. DOI: 10.1182/blood-2012-05-425934.
- Hajek R., Masszi T., Petrucci M.T. et al. A randomized phase III study of carfilzomib vs low-dose corticosteroids with optional cyclophosphamide in relapsed and refractory multiple myeloma (FOCUS). *Leukemia* 2017;31(1):107–14. DOI: 10.1038/leu.2016.176.
- Moreau P., Mateos M.V., Berenson J.R. et al. Once weekly versus twice weekly carfilzomib dosing in patients with relapsed and refractory multiple myeloma (A.R.R.O.W.): interim analysis results of a randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2018;19(7):953–64. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30354-1.
- Stewart A.K., Rajkumar S.V., Dimopoulos M.A. et al. Carfilzomib, lenalidomide, and dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Engl J Med* 2015;372(2): 142–52. DOI: 10.1056/NEJMoa1411321.
- Siegel D.S., Dimopoulos M.A., Ludwig H. et al. Improvement in overall survival with carfilzomib, lenalidomide, and dexamethasone in patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2018;36(8):728–34. DOI: 10.1200/JCO.2017.76.5032.
- Facon T., Lee J.H., Moreau P. et al. Randomized phase 3 study of carfilzomib or bortezomib with melphalan-prednisone for transplant-ineligible, NDMM patients. *Blood* 2019. DOI: 10.1182/blood-2018-09-874396.
- Zimmerman T., Raj N.S., Vij R. et al. Final results of a phase 2 trial of extended treatment (tx) with carfilzomib (CFZ), lenalidomide (LEN), and dexamethasone (KRd) plus autologous stem cell transplantation (ASCT) in newly diagnosed multiple myeloma (NDMM). *ASH* 2016. *Blood* 2016;128:675.
- Gay F.M., Cerrato Ch., Scalabrini D.R. et al. Carfilzomib-lenalidomide-dexamethasone (KRd) induction-autologous transplant (ASCT)-Krd consolidation vs KRd 12 cycles vs carfilzomib-cyclophosphamide-dexamethasone (KCd) induction-ASCT-KCd consolidation: analysis of the randomized forte trial in newly diagnosed multiple myeloma (NDMM). *ASH* 2018. *Blood* 2018;132:121. DOI: https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-112093.
- Gay F.M., Scalabrini D.R., Belotti A. et al. Carfilzomib-lenalidomide-dexamethasone (KRd) vs carfilzomib-cyclophosphamide-dexamethasone (KCd) induction: planned interim analysis of the randomized FORTE trial in newly diagnosed multiple myeloma (NDMM). *ASCO* 2017. *J Clin Oncol* 2017;35(15_suppl):8003. DOI: 10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.8003.
- Zhao F., Yang B., Wang J. et al. Incidence and risk of cardiac toxicities in patients

- with relapsed and refractory multiple myeloma treated with carfilzomib. *Drug Des Devel Ther* 2018;12:1525–31. DOI: 10.2147/DDDT.S159818.
32. Bringhen S., Milan A., D'Agostino M. et al. Prevention, monitoring and treatment of cardiovascular adverse events in myeloma patients receiving carfilzomib A consensus paper by the European Myeloma Network and the Italian Society of Arterial Hypertension. *J Intern Med* 2019. DOI: 10.1111/joim.12882.
 33. Richardson P.G., Zweegman S., O'Donnell E.K. et al. Ixazomib for the treatment of multiple myeloma. *Expert Opin Pharmacother* 2018;19(17):1949–68. DOI: 10.1080/14656566.2018.1528229.
 34. Kupperman E., Lee E.C., Cao Y. et al. Evaluation of the proteasome inhibitor MLN9708 in preclinical models of human cancer. *Cancer Res* 2010;70(5):1970–80. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2766.
 35. Richardson P.G., Avet-Loiseau H., Antonio Palumbo A. et al. Efficacy and safety of ixazomib plus lenalidomide-dexamethasone (IRd) vs placebo-Rd in patients (pts) with relapsed/refractory multiple myeloma (RRMM) by cytogenetic risk status in the global phase III TOURMALINE-MM1 study. ASCO 2016. *J Clin Oncol* 2016;34(15_suppl):8018–8. DOI: 10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.8018.
 36. Moreau P., Masszi T., Grzasko N. et al. Oral ixazomib, lenalidomide, and dexamethasone for multiple myeloma. *N Engl J Med* 2016;374(17):1621–34. DOI: 10.1056/NEJMoa1516282.
 37. Dimopoulos M.A., Gay F., Schjesvold F. et al. Oral ixazomib maintenance following autologous stem cell transplantation (TOURMALINE-MM3): a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet* 2019;393(10168):253–64. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)33003-4.
 38. Harrison S.J., Mainwaring P., Price T. et al. Phase I clinical trial of marizomib (NPI-0052) in patients with advanced malignancies including multiple myeloma: study NPI-0052-102 final results. *Clin Cancer Res* 2016;22(18):4559–66. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2616.
 39. Spencer A., Harrison S., Zonder J. et al. A phase I clinical trial evaluating marizomib, pomalidomide and low-dose dexamethasone in relapsed and refractory multiple myeloma (NPI-0052-107): final study results. *Br J Haematol* 2018;180(1):41–51. DOI: 10.1111/bjh.14987.
 40. Sanchez E., Li M., Wang C.S. et al. Anti-angiogenic and anti-multiple myeloma effects of oprozomib (OPZ) alone and in combination with pomalidomide (Pom) and/or dexamethasone (Dex). *Leuk Res* 2017;57:45–54. DOI: 10.1016/j.leukres.2017.03.002.
 41. Berkers C.R., Leestemaker Y., Schuurman K.G. et al. Probing the specificity and activity profiles of the proteasome inhibitors bortezomib and delanzomib. *Mol Pharm* 2012;9(5):1126–35. DOI: 10.1021/mp2004143.
 42. Vogl D.T., Martin T.G., Vij R. et al. Phase I/II study of the novel proteasome inhibitor delanzomib (CEP-18770) for relapsed and refractory multiple myeloma. *Leuk Lymphoma* 2017;58(8):1872–9. DOI: 10.1080/10428194.2016.1263842.
 43. Chauhan D., Tian Z., Zhou B. et al. *In vitro* and *in vivo* selective antitumor activity of a novel orally bioavailable proteasome inhibitor MLN9708 against multiple myeloma cells. *Clin Cancer Res* 2011;17(16):5311–21. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0476.
 44. Besse A., Besse L., Kraus M. et al. Proteasome inhibition in multiple myeloma: head-to-head comparison of currently available proteasome inhibitors. *Cell Chem Biol* 2019;26(3):340–51. DOI: 10.1016/j.chembiol.2018.11.007.

ORCID автора/ORCID of author

С.В. Семочкин/S.V. Semochkin: <https://orcid.org/0000-0002-8129-8114>

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Поражение тонкой кишки при остром миелоидном лейкозе: клинический случай и обзор литературы

И.А. Докшина, А.В. Лянгузов, С.В. Игнатъев, О.Ю. Сергунина, С.Л. Калинина,
Е.С. Прокопьев, Д.А. Дьяконов

ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови ФМБА»;
Россия, 610027 Киров, ул. Красноармейская, 72

Контакты: Сергей Викторович Игнатъев feb74@yandex.ru

В настоящее время диагностика острого миелоидного лейкоза базируется на стандартах морфологического, иммунофенотипического и цитогенетического исследований костного мозга. В случае, если манифестация заболевания сопровождается экстрамедуллярными поражениями, верифицировать их достаточно сложно. В статье представлен случай диагностики острого миелоидного лейкоза у пожилой женщины, протекающий с лейкоемическим поражением тонкого кишечника. Морфологические и иммунофенотипические исследования биоптата тонкой кишки позволили установить линейную принадлежность опухолевых клеток к острому миелоидному лейкозу. Трудности обследования в подобных ситуациях приводят к позднему выявлению редких локализаций опухолевого поражения, что существенно ухудшает прогноз.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз, экстрамедуллярное поражение, лейкоемическая инфильтрация тонкого кишечника, кровотечение, язва

Для цитирования: Докшина И.А., Лянгузов А.В., Игнатъев С.В. и др. Поражение тонкой кишки при остром миелоидном лейкозе: клинический случай и обзор литературы. Онкогематология 2019;14(2):41–7.

DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-2-41-47

Extramedullary lesions of a small intestine in acute myeloid leukemia: case report and literature review

I.A. Dokshina, A.V. Lyanguzov, S.V. Ignatyev, O.Yu. Sergunina, S.L. Kalinina, E.S. Prokopyev, D.A. Dyakonov
Kirov Research Institute of Haematology and Blood Transfusion under the Federal Medicobiological Agency;
72 Krasnoarmeyskaya St., Kirov 610027, Russia

Currently, the diagnosis of acute myeloid leukemia is based on the standards of morphological studies and immunophenotyping of the bone marrow. The manifestation of the disease can be accompanied by extramedullary lesions, which are difficult to verify. The article presents a case of diagnosis of acute myeloid leukemia in an elderly woman, occurring with a leukemic lesion of the small intestine. Morphological studies and immunophenotyping of small intestine biopsy revealed acute myeloid leukemia blast tumor cells. Difficulties of examination in such cases lead to late revealing of leukemic infiltrates of rare localization and significantly worsen the prognosis.

Key words: acute myeloid leukemia, extramedullary lesion, leukemic infiltration of the small intestine, bleeding, ulcer

For citation: Dokshina I.A., Lyanguzov A.V., Ignatyev S.V. et al. Extramedullary lesions of a small intestine in acute myeloid leukemia: case report and literature review. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2019;14(2):41–7.

Введение

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) — клональное опухолевое заболевание кроветворной ткани, связанное с мутацией в клетке-предшественнице гемопоэза, следствием которой становятся блок дифференцировки и неконтролируемая пролиферация незрелых миелоидных клеток [1]. В настоящее время диагностика ОМЛ базируется на данных морфологического, иммунофенотипического и цитогенетического исследований костного мозга, ликвора и др. Экстрамедуллярные поражения при ОМЛ — достаточно редкое проявление заболевания. По данным разных авторов,

внекостномозговые локализации при ОМЛ встречаются в 3–8 % случаев [2, 3]. В большинстве наблюдений эти изменения обнаруживаются при аутопсии, так как при жизни больного они могут протекать бессимптомно или неправильно интерпретироваться. Своевременная и точная диагностика экстрамедуллярных проявлений осуществляется только в 38 % случаев [4]. Наиболее часто в процесс вовлекаются кости, кожа, лимфатические узлы, тонкая кишка, органы мочеполовой системы.

Ряд авторов связывают экстрамедуллярные проявления ОМЛ с наличием на опухолевых клетках

хемокиновых рецепторов, определяющих тропность к тому или иному органу. С.М. Faaij и соавт. показали взаимосвязь наличия рецепторов CCR5, CXCR4, CXCR7 и CX3CR1 с локализацией опухолевых клеток в коже [5]. По данным S.A. Pileri и соавт., при экстрамедуллярной локализации опухоли иммунофенотипически наиболее часто выявляются CD68/KP1 (100 %), миелопероксидаза (83,6 %), CD117 (80,4 %), CD99 (54,3 %), CD68/PG-M1 (51,0 %), CD34 (43,4 %), TdT (31,5 %), CD56 (13,0 %), CD61 (2,2 %), CD30 (2,2 %) и CD4 (1,1 %) [6]. М. Choi и соавт. выявили в миелобластах мутации генов пути рецепторной тирозинкиназы RTK-RAS (NRAS, FLT3 ITD, KIT и KRAS, ERBB2, JAK2, PIK3CA и RET). Также регистрировались мутации IDH2, R140Q и NPM1 [7].

В настоящей статье приводим собственное наблюдение лейкемического поражения тонкого кишечника при ОМЛ.

Клинический случай

Больная С., 61 года, направлена в клинику Кировского научно-исследовательского института гематологии и переливания крови 17.12.2018 с подозрением на острый лейкоз. При поступлении состояние больной оценивалось как средней степени тяжести, обусловленное явлениями интоксикации: фебрильной лихорадкой, отсутствием аппетита, снижением массы тела на 5 кг, диспепсией в виде тошноты при отсутствии рвоты и энтеропатии. Из анамнеза известно, что в ноябре 2018 г. пациентка обратилась к врачу с жалобами на выраженную слабость, разлитые боли в животе и снижение массы тела на 7 кг, по поводу чего было проведено обследование желудочно-кишечного тракта (ЖКТ): эзофагофиброгастродуоденоскопия (ЭФГДС), по результатам которой выявлен атрофический гастрит, и ультразвуковое исследование органов брюшной полости, по данным которого обнаружены гепатомегалия и конкременты желчного пузыря. В общем анализе периферической крови отмечены снижение концентрации гемоглобина (HGB) — 74 г/л, количества тромбоцитов (PLT) — 17×10^9 /л и лейкоцитов (WBC) — $1,8 \times 10^9$ /л с наличием бластных клеток — 9 %, увеличение скорости оседания эритроцитов — 70 мм/ч. Острая хирургическая патология была исключена.

При осмотре и физикальном обследовании значимых изменений со стороны дыхательной и сердечно-сосудистой систем у пациентки не выявлено. Нормотермия. При пальпации: периферические лимфатические узлы не увеличены, живот мягкий, безболезненный, печень, селезенка не увеличены. Геморрагический синдром не выражен. Показатели гемограммы: эритроциты (RBC) $2,19 \times 10^{12}$ /л, HGB 74 г/л, гематокрит (HCT) 20,5 %, PLT 17×10^9 /л, WBC $1,62 \times 10^9$ /л (бластные клетки 2 %). В биохимическом анализе крови показатели оставались в пределах нормы. Больной была выполнена рентгеновская компьютерная томография органов грудной клетки, брюшной полости и забрюшинного простран-

ва. Обнаружены увеличенные парааортальные и мезентериальные лимфатические узлы (до 7 мм, без накопления контрастного вещества), спленомегалия ($114 \times 76 \times 133$ мм). Проведена миелография с морфологическим, иммунофенотипическим, цитогенетическим и молекулярно-генетическим исследованиями костного мозга. По данным морфологического исследования костного мозга выявлены умеренная клеточность (30×10^9 /л), инфильтрация бластными элементами (24,8 %), редукция нейтрофильного ряда (32,8 %), сохранение эритроидного ростка (12,4 %), явления дисплазии эритрокариоцитов, единичные мегакариоциты, увеличение числа лимфоцитов (21,6 %) и моноцитов (8,0 %). Реакция на липиды положительная в 10 % бластов, реакция на миелопероксидазу положительная в 20 % клеток, гликоген в виде слабого диффузного окрашивания, реакция на ацетил-as-ацетэстеразу I–II степени активности. Иммунофенотипическая характеристика клеток костного мозга: опухолевые клетки с фенотипом суMPO+/-CD34+HLA-DR+CD13+CD117+CD33-CD7-. При стандартном цитогенетическом исследовании клеток костного мозга установлен кариотип: 44, XX, del(5)(q15?), der(8) add(8)(p23), t(11;21)(q1?:q22), der17, -18, -19, del(20)(q1?), -22, +mar[12]/46, XX[5], обнаружен клон с комплексными нарушениями кариотипа. Результат флуоресцентной гибридизации: в 68 % интерфазных клеток костного мозга выявлена 1 копия локуса TP53 (17p13), что указывает на делецию данного локуса с учетом результата гибридизации по локусу D17Z1 (17p11.1-q11.1).

Согласно классификации Всемирной организации здравоохранения 2016 г. [8] на основании представленных данных был верифицирован ОМЛ с признаками созревания, комплексными нарушениями кариотипа, TP53+, острый период (ОМЛ, M2-вариант по FAB-классификации, с комплексными нарушениями кариотипа, острый период).

По результатам исследований, с учетом возраста пациентки, неблагоприятных цитогенетических поломок (несбалансированные хромосомные aberrации с комплексным моносомным кариотипом, мутацией TP53+) установлен высокий риск неблагоприятного прогноза ОМЛ. Решением консилиума в соответствии с протоколом дифференцированного лечения ОМЛ у больных старше 60 лет (2018) [9] с 21.12.2018 по 28.12.2018 пациентке был проведен 1 индукционный курс химиотерапии (ХТ) по схеме «7 + 3» (цитарабин 100 мг/м² 2 раза в сутки внутривенно № 7, даунорубин 45 мг/м² внутривенно № 3).

При динамическом мониторинге показателей гемограммы отмечалась глубокая панцитопения (HGB 68 г/л, WBC $0,33 \times 10^9$ /л, PLT 16×10^9 /л), что потребовало проведения заместительной терапии компонентами крови. С 3-го дня ХТ у больной развилась фебрильная нейтропения, эмпирически назначены антибактериальная терапия (амикацин 1 г/сут, цефепим 4 г/сут), противогрибковая терапия (позаконазол 400 мг/сут). В связи

с сохраняющейся лихорадкой и увеличением уровня С-реактивного белка (СРБ) до 0,195 г/л на 5-е сутки ХТ произведена смена антибактериальной терапии (меропенем 6 г/сут, линезолид 1200 мг/сут, липидный комплекс амфотерицина 3 мг/кг массы тела в сутки). Выполнены исследования посевов со слизистых оболочек носоглотки и ануса, мокроты, крови на микрофлору и чувствительность к антибиотикам, противогрибковым препаратам. В мазках из зева выявлен рост *Staphylococcus mitis/oralis* 10^2 и *Staphylococcus aureus* 10^1 , из периферической крови выделен *Staphylococcus epidermidis* с высокой чувствительностью микрофлоры к назначенным антибиотикам. Состояние больной стабилизировалось, лихорадка купирована, уровень СРБ снизился до 0,107 г/л. По данным компьютерной томографии органов грудной клетки очагов патологической плотности в паренхиме легких не отмечено. Результат компьютерной томографии органов брюшной полости: содержимое тонкой и толстой кишки неоднородное (плотность до 16–45 Н), визуализируется газ, диаметр восходящей кишки до 45 мм, диаметр тонкой кишки до 13–15 мм.

На 4-е сутки после ХТ у пациентки вновь появилась фебрильная лихорадка, концентрация СРБ повысилась до 0,388 г/л. Антибактериальная терапия скорректирована с учетом анализа госпитальной микрофлоры (полимиксин 200 мг/сут, дорипенем 3 г/сут, ванкомицин 2 г/сут, рифаксимин 600 мг/сут). Эмпирически назначен ганцикловир 900 мг/сут, но после получения отрицательных результатов анализа крови на ДНК цитомегаловируса противовирусная терапия отменена.

Весь период индукционной ХТ сопровождался глубокой тромбоцитопенией, требующей заместительной терапии концентратами тромбоцитов. На 7-е сутки курса ХТ развилась клиническая картина ЖКТ-кровотечения в виде мелены (показатели гемограммы: HGB 52 г/л, WBC $0,03 \times 10^9$ /л, PLT 32×10^9 /л). Весь предыдущий период лечения у пациентки был регулярный оформленный стул без патологических примесей. На фоне угрожающего жизни кровотечения больная была переведена в отделение анестезиологии и реанимации. Показатели гемодинамики оставались стабильными (артериальное давление 110/70 мм рт. ст., частота сердечных сокращений 84 уд/мин). Оценка по шкале АРАСНЕ II составила 16 баллов. Изменений в коагулограмме не выявлено. Больной проводилась заместительная терапия эритроцитной массой, концентратом тромбоцитов и гемостатическая терапия (этамзилат 1500 мг/сут, транексамовая кислота 2000 мг/сут, менадион натрия 20 мг/сут), назначена антисекреторная терапия (эзомепразол 160 мг/сут).

Состояние пациентки стабилизировалось, была продолжена плановая сопроводительная терапия. Через 3 сут состояние больной вновь ухудшилось в связи с рецидивом ЖКТ-кровотечения, осложненного геморрагическим шоком, что проявлялось снижением артериального давления до 80/40 мм рт. ст., тахикардией до 120 уд/мин

(шоковый индекс Альговера 1,5). Показатели гемограммы: RBC $1,09 \times 10^{12}$ /л, HGB 33 г/л, WBC $0,12 \times 10^9$ /л, PLT 29×10^9 /л, HCT 9,3 %. При тромбозастиографии обнаружены явления гипокоагуляции: интервал R 54 мин (норма 12–26 мин), интервал K – расчет невозможен (норма 3–13 мин), угол α $1,4^\circ$ (норма 14–46°), максимальная амплитуда 4,1 мм (норма 42–63 мм), максимальная прочность сгустка (G) 0,2 К (норма 3,2–7,1 К). Характер кровотечения расценен как коагулопатический. Проведена массивная заместительная терапия (концентрат тромбоцитов 12 доз, свежезамороженная плазма 22 мл/кг, эритроцитная масса 10 мл/кг, кристаллоиды до 20 мл/кг), по жизненным показаниям введен концентрат протромбинового комплекса в дозе 1500 МЕ. В результате консервативной терапии явления геморрагического шока и ЖКТ-кровотечения купировались. Назначения симпатомиметиков не потребовалось.

Пациентке выполнены диагностические мероприятия для определения источника кровотечения. По результатам ЭФГДС установлена эритематозная гастропатия, признаков кровотечения из верхних отделов ЖКТ не выявлено. По данным фиброколоноскопии источников кровотечения в толстой кишке не определяется, однако в просвете терминального отдела подвздошной кишки обнаружена темная кровь. Пациентка находилась под динамическим наблюдением хирурга и колопроктолога.

В связи с явлениями продолжающегося ЖКТ-кровотечения коллегиально принято решение о проведении диагностической лапаротомии в целях выявления и устранения источника кровотечения.

Больной выполнена срединная лапаротомия. При ревизии органов брюшной полости обнаружены множественные очаги поражения слизистой оболочки на всем протяжении тощей и подвздошной кишки, циркулярного характера. Серозная оболочка над дефектами не изменена (рис. 1). С учетом тотального характера повреждения тонкого кишечника и тяжести состояния пациентки радикальное оперативное лечение выполнить невозможно. Один из пораженных участков тощей кишки рассечен на всю толщину, просвет кишечника заполнен темной кровью. Осуществлена клиновидная резекция дефекта слизистой оболочки для проведения гистологического исследования. Визуально определено изъязвление слизистой оболочки, взяты посевы со дна язвы (рис. 2).

При гистологическом исследовании биопсийного материала тонкой кишки установлено, что ее структура преимущественно сохранена, отмечено умеренное венозно-капиллярное кровенаполнение всех слоев стенки кишечника, выявлены эритро- и плазмостазы, стенки сосудов без особенностей; слизистая, мышечная оболочки и подслизистая основа с признаками отека; в подслизистом и мышечном слоях на фоне выраженной лимфоидной инфильтрации в небольшом количестве выявляются бластные клетки с нечеткими нуклеолами, ядрами округлой и неправильной формы,

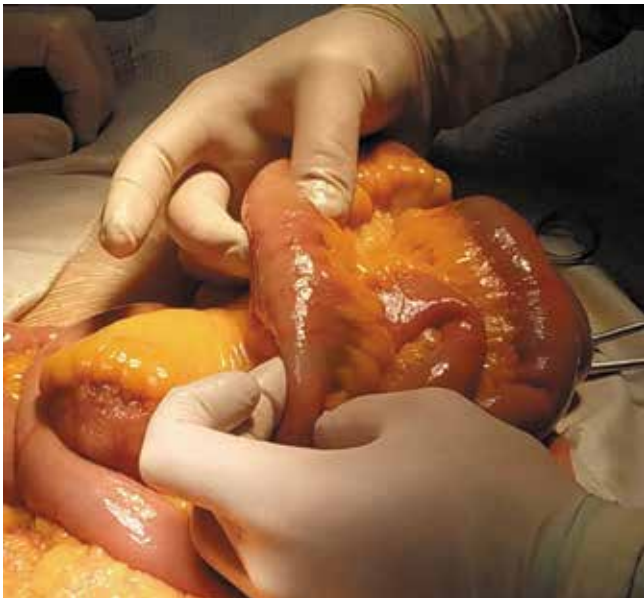


Рис. 1. Интраоперационный снимок. Очаг поражения тощей кишки, сливного и циркулярного характера, серозная оболочка над дефектами не изменена

Fig. 1. Intraoperative photo. Lesion in the jejunum, confluent and circular, serosa above the defects is unchanged



Рис. 2. Интраоперационный снимок. Очаг изъязвления слизистой оболочки тощей кишки

Fig. 2. Intraoperative photo. Ulcerative lesion of the jejunal mucosa

узкой/умеренной цитоплазмой. Для уточнения генеза поражения тонкого кишечника выполнено иммуногистохимическое исследование с расширенной панелью антител. Опухолевые клетки биоптата имели положительные реакции с маркерами миелоидной популяции (MPO+, HLA-DR+). Положительная экспрессия в этих же клетках антитела к CD34+ указывала в пользу того, что опухолевые элементы миелоидной популяции относились к гемопоэтическим предшественникам (миелобластам). Реакция с CD20 определялась в В-лимфоцитах, небольшое число которых локализовалось дискретно в подслизистом и мышечном слоях тонкого кишечника. Т-клетки (CD3) встречались

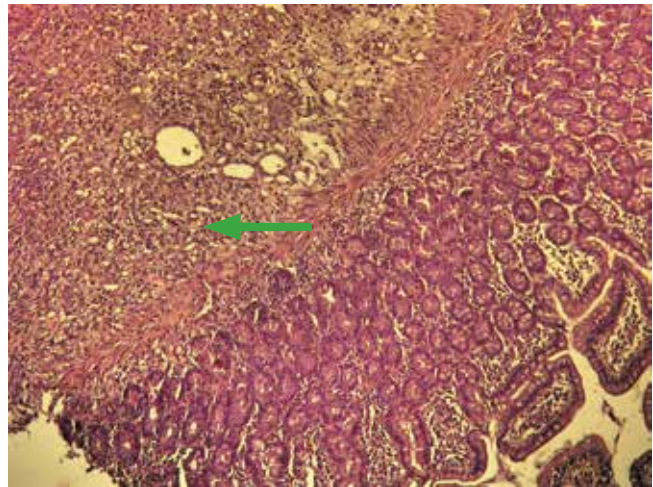


Рис. 3. Гистологическое исследование биоптата тонкого кишечника (окраска гематоксилином и эозином). Биоптат с частичным сохранением рисунка и инфильтрацией подслизистой основы бластными клетками (стрелка) (окуляр $\times 10$, объектив $\times 10$)

Fig. 3. Histological examination of small intestine biopsy sample (hematoxylin and eosin staining). Biopsy sample with partially preserved pattern and infiltration of the submucosal base by blast cells (arrow) (eyepiece $\times 10$, lens $\times 10$)

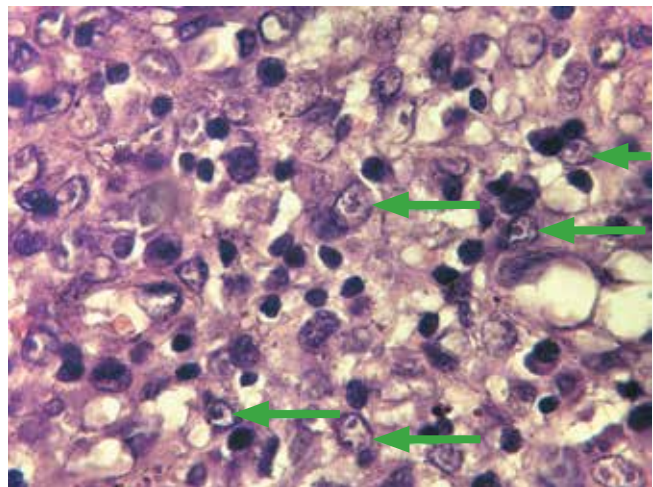


Рис. 4. Гистологическое исследование биоптата тонкого кишечника (окраска гематоксилином и эозином). На фоне зрелых лимфоцитов и плазмочитов в подслизистой основе выявляется бластная инфильтрация клетками средних и крупных размеров с ядрами округлой и неправильной формы, мелкодисперсным хроматином, нечеткими ядрышками (стрелки) (окуляр $\times 10$, объектив $\times 100$)

Fig. 4. Histological examination of small intestine biopsy sample (hematoxylin and eosin staining). At the background of mature lymphocytes and plasma cells in the submucosal base, blast cell infiltration by medium and large-sized cells of round and irregular shape, with finely dispersed chromatin, amorphous nucleoli are observed (arrows) (eyepiece $\times 10$, lens $\times 100$)

в этих же зонах органа в большем количестве. Реакции с CD20, CD3 в опухолевых бластных элементах были отрицательные. По совокупности полученных патоморфологических и иммунофенотипических данных лимфоидная природа опухоли была исключена. Гистологическая и иммуногистохимическая картина исследуемого материала соответствовала лейкоемическому поражению тонкого кишечника при ОМЛ (рис. 3, 4).

Случаи острого миелоидного лейкоза с поражением желудочно-кишечного тракта с данными собственного наблюдения

Cases of acute myeloid leukemia with involvement of the gastrointestinal tract with the authors' observed data

| Автор, год Author, year | ФАВ-классификация FAB classification | Цитогенетические нарушения Cytogenetic abnormalities |
|---|---|---|
| M. M. Le Beau et al., 1983 [17] | AML-M4 | inv(16) |
| S. J. Russell et al., 1988 [18] | AML-M4 | 50, XY, +6, +9, +14, inv(16), +22 |
| F. Morel et al., 2002 [19] | AML-M2 | nv(16), trisomy 9 and 22 |
| P. Alvarez et al., 2011 [20] | AML-M2 | CBFβ/MYH11, inv(16) |
| S. Gajendra et al., 2014 [21] | AML-M2 | nv(16), trisomy 22 |
| И. А. Докшина и соавт., 2019 (собственное наблюдение) I. A. Dokshina et al., 2019 (authors' observed data) | AML-M2 | 44, XX, del(5)(q15?), der(8) add(8)(p23), t(11;21)(q1?:q22), der17, -18, -19, del(20)(q1?), -22, +mar[12]/46, XX[5], TP53(17p13)+ |

При микробиологическом исследовании содержимого дна язвы выделена *Pseudomonas aeruginosa*, чувствительная к колестиметату натрия.

В послеоперационном периоде больной проводили продолжительную искусственную вентиляцию легких, заместительную гемокомпонентную (эритроцитная масса 10 мл/кг массы тела в сутки, концентрат тромбоцитов 8 доз в сутки, свежезамороженная плазма 15 мл/кг массы тела в сутки), гемостатическую (этамзилат натрия 12,54 мл внутривенно 3 раза в сутки, транексамовая кислота 15 мл/кг массы тела в сутки), антибактериальную и противогрибковую (имипенем/циластатин 4 г/сут, ванкомицин 2 г/сут, амфотерицин В (липидный комплекс) 3 мл/кг массы тела в сутки) терапию.

Несмотря на интенсивную посиндромную терапию, состояние пациентки прогрессивно ухудшалось, сохранялась фебрильная лихорадка до 39,9 °C на фоне агранулоцитоза и продолжающегося ЖКТ-кровотечения, присоединились явления печеночной недостаточности. При нарастающих признаках сердечно-сосудистой недостаточности больная погибла на 18-е сутки после ХТ.

Обсуждение

Экстремедулярные патологические очаги при ОМЛ встречаются редко. Чаще других упоминаются поражения кожи, костей, лимфатических узлов и центральной нервной системы [10–12].

По опубликованным данным, вовлечение ЖКТ встречается в 6,5 % случаев [13]. Диагностировать поражение ЖКТ лейкозными клетками достаточно сложно ввиду того, что терапия лейкоза часто сопровождается развитием осложнений и такими симптомами, как периодические боли в животе, диарея, тошнота, рвота, лихорадка и снижение массы тела [14]. На фоне лечения этой категории пациентов часто наблюдаются явления энтеропатии, ЖКТ-кровотечения, симптомы кишечной непроходимости, перфорация полых органов брюшной полости [15]. Внекостномозговые поражения при ОМЛ скрываются

под «маской» соматической патологии и своевременно не верифицируются, ухудшают течение и прогноз заболевания [16].

В описанном случае диагноз ОМЛ установлен на основании морфологических, иммунофенотипических, цитогенетических исследований костного мозга. Осложнения, развившиеся на фоне индукционной ХТ и гипоплазии кроветворения (фебрильная лихорадка, ЖКТ-кровотечение), послужили поводом для дополнительного обследования (ЭФГДС и фиброколоноскопия), однако источник кровотечения обнаружен не был. Верифицировать лейкоэмическую инфильтрацию тонкого кишечника и его поражение *Pseudomonas aeruginosa* удалось лишь с помощью биопсии тощей кишки с последующим гистологическим и иммуногистохимическим исследованием материала, микробиологического исследования мазков, взятых со слизистой оболочки тощей кишки интраоперационно.

Опубликованные в литературе немногочисленные случаи ОМЛ, протекающего с поражением ЖКТ, и собственное наблюдение приведены в таблице с указанием цитогенетических аномалий. Считаем, что сбор данных о цитогенетических аномалиях при ОМЛ, сопровождающихся экстремедулярными поражениями, может оптимизировать диагностику данной патологии и определить тактику дальнейшей терапии.

Представленный случай иллюстрирует сложность интерпретации клинических и лабораторных признаков при ОМЛ с экстремедулярным поражением кишечника. Специфическое поражение данной локализации в острый период заболевания при глубокой депрессии кроветворения трудно диагностировать, так как инструментальные и оперативные вмешательства на фоне нарушений гемостаза, гипоплазии кроветворения и глубокого иммунодефицита сопряжены с высоким риском для жизни у данной категории пациентов.

Заключение

В статье представлен редкий случай верификации ОМЛ взрослых, протекающий с экстрамедуллярным поражением тонкого кишечника. Прижизненное морфологическое, иммуногистохимическое исследование биоптата тонкой кишки позволило установить линейную принадлежность опухолевых клеток. Первичные клинические проявления ОМЛ характеризуются выраженным полиморфизмом, что требует

от врачей особого внимания при оценке анамнестических, клинических и лабораторных данных, которые могут свидетельствовать о наличии экстрамедуллярных очагов. При развитии жизнеугрожающих состояний необходим регулярный мониторинг клинической картины и лабораторных показателей, при отрицательной динамике которых считаем целесообразным применение методов инвазивной диагностики.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Grove C.S., Vassiliou G.S. Acute myeloid leukaemia: a paradigm for the clonal evolution of cancer? *Dis Model Mech* 2014;7(8):941–51. DOI: 10.1242/dmm.015974.
- Cho-Vega J.H., Medeiros L.J., Prieto V.G. et al. Leukemia cutis. *Am J Clin Pathol* 2008;129(1):130–42. DOI: 10.1309/WYACYWF6NGM3WBRT.
- Кравцова Е.Н., Щегина О.В. Миелоидная саркома в практике врача-оториноларинголога. *Российская оториноларингология* 2017;(6):135–9. [Kravtsova E.N., Shchetinina O.V. Myeloid sarcoma in the practice of otorhinolaryngologist. *Rossiyskaya otorinolaryngologiya = Russian Otorhinolaryngology* 2017;(6):135–9. (In Russ.)].
- Byrd J.C., Weiss R.B., Arthur D.C. et al. Extramedullary leukemia adversely affects hematologic complete remission rate and overall survival in patients with t(8;21)(q22;q22): results from Cancer and Leukemia Group B 8461. *J Clin Oncol* 1997;15(2):466–75. DOI: 10.1200/JCO.1997.15.2.466.
- Faaij C.M., Willemze A.J., Révész T. et al. Chemokine/chemokine receptor interactions in extramedullary leukaemia of the skin in childhood AML: differential roles for CCR2, CCR5, CXCR4 and CXCR7. *Pediatr Blood Cancer* 2010;55(2):344–8. DOI: 10.1002/pbc.22500.
- Pileri S.A., Ascani S., Cox M.C. et al. Myeloid sarcoma: clinico-pathologic, phenotypic and cytogenetic analysis of 92 adult patients. *Leukemia* 2007;21(2):340–50. DOI: 10.1038/sj.leu.2404491.
- Choi M., Jeon Y. K., Sun C.H. et al. RTK-RAS pathway mutation is enriched in myeloid sarcoma. *Blood Cancer J* 2018;8(5):43. DOI: 10.1038/s41408-018-0083-6.
- Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R. et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127(20):2391–405. DOI: 10.1182/blood-2016-03-643544.
- Троицкая В.В., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г. Протокол дифференцированного лечения острых миелоидных лейкозов у больных старше 60 лет. В кн.: Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. Том 1. М.: Практика, 2019. С. 529–569. [Troitskaya V.V., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G. The protocol for the differential treatment of acute myeloid leukemia in patients over 60 years old. In: Algorithms for diagnosis and protocol for the treatment of diseases of the blood system. Ed.: V.G. Savchenko. Vol. 1. Moscow: Praktika, 2019. Pp. 529–569. (In Russ.)].
- Климашевский В.Ф., Морозова Е.В., Шашкова Н.Г. и др. Миелоидная саркома шейки матки как проявление рецидива острого миелобластного лейкоза. *Вопросы онкологии* 2006;(1):102–4. [Klimashevskiy V.F., Morozova E.V., Shashkova N.G. et al. Myeloid sarcoma of the cervix as a manifestation of the recurrence of acute myeloblastic leukemia. *Voprosy onkologii = Problems in Oncology* 2006;(1):102–4. (In Russ.)].
- Breccia M., Mandelli F., Petti M.C. et al. Clinico-pathological characteristics of myeloid sarcoma at diagnosis and during follow-up: report of 12 cases from a single institution. *Leuk Res* 2004;28(11):1165–9. DOI: 10.1016/j.leukres.2004.01.022.
- Валиев Т.Т., Ковригина А.М., Панферова Т.Р. и др. Клиническое наблюдение миелоидной саркомы у ребенка. *Клиническая онкогематология* 2017;10(2):218–26. DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-2-218-226. [Valiev T.T., Kovrigina A.M., Panferova T.R. et al. A Case report of myeloid sarcoma in a child. *Clinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology* 2017;10(2):218–26. (In Russ.)].
- Girelli C.M., Carsenzuola V., Latargia M. et al. Small-bowel myeloid sarcoma: Report of a case with atypical presentation. *Int J Surg Case Rep* 2014;5(9):613–6. DOI: 10.1016/j.ijscr.2014.07.002.
- Choi E.K., Ha N.K., Park S.H. et al. Granulocytic sarcoma of bowel: CT findings. *Radiology* 2007;243(3):752–9. DOI: 10.7860/JCDR/2014/9112.4578.
- Игнатъев С.В., Лянгузов А.В., Докшина И.А. и др. Анализ клинического случая антибиотикассоциированного колита у пациентки с лимфомой Ходжкина. *Вятский медицинский вестник* 2018;1(57):67–70. [Ignatyev S.V., Lyanguzov A.V., Dokshina I.A. et al. Analysing clinical cases of antibiotic-associated colitis in a patient with hodgkin's lymphoma. *Vyatskiy meditsinskiy vestnik = Medical Newsletter of Vyatka* 2018;1(57):67–70. (In Russ.)].
- Hagen P.A., Singh C., Hart M., Blaes A.H. Differential diagnosis of isolated myeloid sarcoma: a case report and review of the literature. *Hematol Rep* 2015;7(2):5709. DOI: 10.4081/hr.2015.5709.
- Le Beau M.M., Larson R.A., Bitter M.A. et al. Association of an inversion of chromosome 16 with abnormal marrow eosinophils in acute myelomonocytic leukemia. *N Engl J Med* 1983;309:630–6. DOI: 10.1056/NEJM198309153091103.
- Russell S.J., Giles F.J., Thompson D.S. et al. Granulocytic sarcoma of the small intestine preceding acute myelomonocytic leukemia with abnormal eosinophils and inv(16). *Cancer Genet Cytogenet* 1988;35:231–5.
- Morel F., Herry A., Le Bris M.J. et al. Isolated granulocytic sarcoma followed by acute myelogenous leukemia type FAB-M2 associated with inversion 16 and trisomies 9 and 22. *Leukemia* 2002;16(12):2458–9. DOI: 10.1038/sj.leu.2402593.
- Alvarez P., Navascués C.A., Ordieres C. et al. Granulocytic sarcoma of the small bowel, greater omentum and peritoneum associated with a CBFβ/MYH11 fusion and inv(16)(p13q22): a case report. *Int Arch Med* 2011;4(1):3. DOI: 10.1186/1755-7682-4-3.
- Gajendra S., Gogia A., Das P. et al. Acute myeloid leukemia presenting as “Bowel upset”: a case report. *J Clin Diagnost Res* 2014;8(7):9–10. DOI: 10.7860/JCDR/2014/9112.4578.

Вклад авторов

И.А. Докшина: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, написание части текста рукописи;
А.В. Лянгузов: анализ полученных данных, обзор публикаций по теме статьи, написание части текста рукописи;
С.В. Игнатьев: получение данных, анализ полученных данных, написание части текста рукописи, подготовка части иллюстративного материала;
О.Ю. Сергунина, С.Л. Калинина: получение и анализ данных;
Е.С. Прокопьев: получение данных, оформление иллюстративного материала;
Д.А. Дьяконов: получение и анализ данных, написание части текста рукописи, оформление иллюстративного материала.

Authors' contributions

I.A. Dokshina: developing the research design, reviewing of publications of the article's theme, writing part of the text;
A.V. Lyanguzov: analysis of the obtained data, reviewing of publications of the article's theme, writing part of the text;
S.V. Ignatyev: obtaining data, analysis of the obtained data, writing part of the text, preparation of part of the illustrative material;
O.Yu. Sergunina, S.L. Kalinina: obtaining and analysis data;
E.S. Prokopyev: obtaining data, design of illustrative material;
D.A. Dyakonov: obtaining and analysis data, writing part of the text, design of illustrative material.

ORCID авторов/ORCID of authors

И.А. Докшина/I.A. Dokshina: <http://orcid.org/0000-0002-1447-0199>
А.В. Лянгузов/A.V. Lyanguzov: <https://orcid.org/0000-0001-5509-5308>
С.В. Игнатьев/S.V. Ignatyev: <http://orcid.org/0000-0002-8457-2967>
О.Ю. Сергунина/O.Yu. Sergunina: <https://orcid.org/0000-0003-4056-1323>
С.Л. Калинина/S.L. Kalinina: <https://orcid.org/0000-0002-5775-3471>
Е.С. Прокопьев/E.S. Prokopyev: <https://orcid.org/0000-0002-8952-1771>
Д.А. Дьяконов/D.A. Dyakonov: <https://orcid.org/0000-0001-8688-1344>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Пациентка подписала информированное согласие на публикацию своих данных.

Informed consent. The patient gave written informed consent to the publication of his data.

Особенности субпопуляционного состава мобилизованных стволовых кроветворных клеток у больных с опухолями кроветворной системы и доноров: экспрессия антигенов CD38, HLA-DR и CD143

М.Л. Канаева, И.В. Гальцева, Е.Н. Паровичникова, Ю.О. Давыдова, Т.В. Гапонова, Е.О. Грибанова, Я.Б. Бальжанова, Л.А. Кузьмина, В.В. Троицкая, С.К. Кравченко, Е.Е. Звонков, Л.П. Менделеева, В.Г. Савченко
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России;
Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский проезд, 4

Контакты: Мадина Лечиевна Канаева madinasatto@gmail.com

Цель исследования – изучение особенностей субпопуляционного состава пула мобилизованных стволовых кроветворных клеток в периферической крови (ПК) и лейкоконцентраатах (ЛК) у взрослых больных с онкогематологической патологией и доноров.

Материалы и методы. Экспрессию CD38, HLA-DR и CD143 (ангиотензинпревращающий фермент) определяли в клетках CD34⁺CD45^{low} ПК и ЛК у 80 больных гемобластомами. В контрольную группу включены 10 образцов ПК и 14 образцов ЛК здоровых доноров. Исследование ПК проводили до мобилизации стволовых кроветворных клеток (СКК) и в день лейкафереза до процедуры сбора СКК. Образцы ЛК исследовали в 1-й день сбора СКК.

Результаты. Показано, что CD143 экспрессируется на клетках CD34⁺CD45^{low} как перед мобилизацией, так и после нее у всех пациентов и доноров, но количество клеток CD34⁺CD45^{low}CD143⁺ различалось в зависимости от диагноза и режимов мобилизации. Экспрессия CD143⁺ на клетках CD34⁺CD45^{low} была статистически значимо больше у больных, которым применяли режимы, сочетающие химиотерапию и гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, чем у доноров и больных множественной миеломой, у которых использовали гранулоцитарный колониестимулирующий фактор в монорежиме. Наряду с повышением содержания клеток CD34⁺CD45^{low} после стимуляции кроветворения увеличивалось количество клеток CD34⁺CD45^{low}CD143⁺. Показано, что среди мобилизованных СКК практически отсутствует фракция ранних клеток-предшественниц CD34⁺CD45^{low}, не экспрессирующая CD38, HLA-DR. Перед стимуляцией кроветворения среди клеток крови CD34⁺CD45^{low} преобладают фракции клеток CD38⁺HLA-DR⁻, тогда как после мобилизации увеличилось содержание клеток CD38⁻HLA-DR⁺. Не установлены различия между содержанием клеток CD34⁺CD45^{low}CD143⁺ у больных множественной миеломой в зависимости от статуса заболевания, пола, возраста и количества курсов химиотерапии, предшествующих мобилизации СКК.

Заключение. Выявлена экспрессия ангиотензинпревращающего фермента на клетках CD34⁺ в ПК до и после мобилизации СКК и в ЛК. Количество этих клеток различалось в зависимости от диагноза и режимов мобилизации.

Ключевые слова: стволовые кроветворные клетки, субпопуляция, экспрессия CD34, CD38, HLA-DR, ангиотензинпревращающий фермент (CD143)

Для цитирования: Канаева М.Л., Гальцева И.В., Паровичникова Е.Н. и др. Особенности субпопуляционного состава мобилизованных стволовых кроветворных клеток у больных с опухолями кроветворной системы и доноров: экспрессия антигенов CD38, HLA-DR и CD143. Онкогематология 2019;14(2):48–58.

DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-2-48-58

Subpopulations of mobilized hematopoietic stem cells in patients with hematological malignances and donors: expression of CD38, HLA-DR and CD143

M.L. Kanaeva, I.V. Galtseva, E.N. Parovichnikova, Yu.O. Davydova, T.V. Gaponova, E.O. Gribanova, Ya.B. Balzhanova, L.A. Kuzmina, V.V. Troitskaya, S.K. Kravchenko, E.E. Zvonkov, L.P. Mendeleeva, V.G. Savchenko
National Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyy Zykovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia

The study objective is to investigate the features of subpopulational composition of mobilized hematopoietic stem cells in peripheral blood (PB) and leukocyte concentrates (LC) in adult patients with oncohematological pathology and donors.

Materials and methods. In 80 patients with hemoblastoses, expression of CD38, HLA-DR and CD143 (angiotensin-converting enzyme) was measured in PB and LC CD34⁺CD45^{low} cells. The control group included 10 PB and 14 LC samples from healthy donors. Analysis of PB was performed prior to mobilization of hematopoietic stem cells (HSC) and on the day of leukapheresis prior to HSC collection. LC samples were examined at day 1 after HSC collection.

Results. CD143 is expressed on CD34⁺CD45^{low} cells both prior to mobilization and after it in all patients and donors, but CD34⁺CD45^{low}CD143⁺ cell counts varied depending on diagnosis and mobilization regimen. CD143⁺ expression on CD34⁺CD45^{low} cells was significantly higher in patients who received combination of chemotherapy and granulocyte colony-stimulating factor compared to donors and patients with multi-

ple myeloma who received only granulocyte colony-stimulating factor. Along with elevated $CD34^+CD45^{low}$ cell count after hematopoiesis stimulation, $CD34^+CD45^{low}CD143^+$ cell counts also increased. It was shown that mobilized HSC almost completely lacks a fraction of early $CD34^+CD45^{low}$ progenitor cells not expressing CD38, HLA-DR. Prior to hematopoiesis stimulation among $CD34^+CD45^{low}$ cells, $CD38^+HLA-DR^-$ cell fractions are prevalent, but after mobilization $CD38^+HLA-DR^+$ cell counts increased. No differences between $CD34^+CD45^{low}CD143^+$ cell counts in patients with multiple myeloma depending on disease status, sex, age or number of chemotherapy courses prior to HSC mobilization were observed.

Conclusion. Expression of angiotensin-converting enzyme on $CD34^+$ cells in PB before and after HSC mobilization and in LC was observed. The cell counts varied depending on diagnosis and mobilization regimen.

Key words: hematopoietic stem cells, subpopulation, CD34, CD38, HLA-DR expression, angiotensin-converting enzyme (CD143)

For citation: Kanaeva M.L., Galtseva I.V., Parovichnikova E.N. et al. Subpopulations of mobilized hematopoietic stem cells in patients with hematological malignances and donors: expression of CD38, HLA-DR and CD143. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2019;14(2):48–58.

Введение

Начало исследования по изучению иммунофенотипического профиля стволовых кроветворных клеток (СКК) было положено с момента открытия и подробного описания антигена CD34 [1], который является общим маркером СКК всех этапов дифференцировки: от ранних до унипотентных. Количество клеток $CD34^+$ в периферической крови (ПК) отражает эффект мобилизации СКК и считается наиболее точным критерием эффективности проведения процедуры сбора мобилизованных периферических стволовых клеток в целях дальнейшей трансплантации [2].

Независимо от плотности экспрессии CD34 на мембране клеток-предшественниц, именно суммарный пул клеток $CD34^+$ определяет сроки восстановления кроветворения после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток [3]. В качестве минимальной дозы клеток $CD34^+$, способных обеспечить восстановление гемопоэза после высокодозной химиотерапии (ХТ), установлено 2×10^6 клеток на 1 кг массы тела больного [4].

Экспрессия общелейкоцитарного антигена CD45 характерна для всех гемопоэтических клеток, включая ранние, морфологически незрелые формы. Исключением являются зрелые эритроциты, тромбоциты и плазматические клетки [5]. Известно, что интенсивность экспрессии панлейкоцитарного антигена CD45 представлен на всех СКК по-разному, по мере дифференцировки клеток его экспрессия нарастает от практически отрицательной до слабой, соответствующей уровню экспрессии антигена на гранулоцитах. В основу стандартных цитометрических протоколов для подсчета абсолютного количества стволовых гемопоэтических клеток положена оценка клеток $CD34^+$ в пределах популяции со слабой или очень слабой экспрессией CD45 [6].

На основании экспрессии ряда антигенов на мембране клеток $CD34^+$ можно судить о субпопуляционном составе СКК, т. е. о присутствии среди них полипотентных и линейно коммитированных клеток. Не существует однозначных маркеров для оценки ранних СКК. Для определения этой малой клеточной субпопуляции было использовано сочетание

антигенов CD38 и HLA-DR. Отсутствие экспрессии CD38 и HLA-DR на популяции клеток $CD34^+$ характеризует субпопуляцию наиболее ранних кроветворных клеток с неограниченным потенциалом пролиферации и дифференцировки. При снижении плотности антигена CD34 отмечается увеличение плотности антигена CD38 [7–9]. Наряду с этим большинство клеток популяции $CD34^+CD38^-$ является HLA-DR⁺ и, напротив, большинство клеток $CD34^+HLA-DR^-$ экспрессирует антиген CD38. Функционально данные популяции СКК также являются различными. Клетки $CD34^+CD38^-HLA-DR^+$ демонстрируют свойства истинно СКК с высоким потенциалом пролиферации и дифференцировки.

В настоящее время активно исследуется влияние ренин-ангиотензиновой системы на пролиферативную активность клеток костного мозга. Ангиотензин-превращающий фермент (АПФ) CD143 играет ключевую роль в классической ренин-ангиотензиновой системе, в которой ренин запускает продукцию ангиотензина I из ангиотензиногена, а затем АПФ расщепляет ангиотензин I до ангиотензина II [10]. При оценке методом полимеразной цепной реакции АПФ был обнаружен во всех протестированных 72 тканях человеческого организма с самой высокой распространенностью в эндотелии [11]. V.J. Jokubaitis и соавт. в 2008 г. подтвердили, что АПФ экспрессируется на человеческих эмбриональных клетках и клетках взрослых гемопоэтических органов, включая аорту, печень плода и пуповинную кровь. В человеческом организме до формирования СКК и сосудистой стенки аорты на некоторых клетках эмбриона $CD34^-CD45^-$ обнаружена экспрессия АПФ. Также в результате трансплантации мышам с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (NOD/SCID) было продемонстрировано, что печеночные и костномозговые клетки-предшественницы, экспрессирующие $CD34^+CD143^+$, обладают более длительным пролиферативным потенциалом в отличие от клеток $CD34^+$, не экспрессирующих CD143 [12].

В ряде случаев трансплантация адекватного количества клеток $CD34^+$ не приводит к полноценному трехростковому восстановлению кроветворения.

Иногда после восстановления гемопоэза отмечаются повторные отсроченные цитопении, приводящие к серьезным инфекционным осложнениям. Примерно 10 % случаев трансплантаций сопровождается длительными тромбоцитопениями (30 дней и более) [13].

При более детальном изучении субпопуляционно-го состава трансплантируемых мобилизованных СКК, возможно, удастся ответить на ряд вопросов, касающихся посттрансплантационного восстановления кроветворения.

Цель исследования – изучение особенностей субпопуляционного состава пула мобилизованных СКК в ПК и лейкоконцентратах (ЛК) у взрослых больных с онкогематологической патологией и доноров.

Материалы и методы

Исследование субпопуляций СКК проведено в ПК и ЛК у 80 больных гемобластозами. В исследование были включены 53 больных множественной миеломой (ММ) в возрасте 19–67 лет (медиана 54 года), 20 больных лимфомой Ходжкина и неходжкинскими лимфомами в возрасте 19–67 лет (медиана 43 года), 7 больных острым Т-лимфобластным лейкозом (Т-ОЛЛ) в возрасте 19–62 лет (медиана 34 года). В контрольную группу вошли 24 здоровых донора. Изучили 14 образцов ЛК доноров для неродственной аллогенной трансплантации и 10 образцов ПК добровольцев. Мобилизацию и сбор СКК всем больным проводили в НМИЦ гематологии.

Перед сборами СКК пациентам проводили курс стимуляции кроветворения. В большинстве случаев использовали сочетание ХТ с последующим введением ростовых факторов кроветворения в дозировке 5–10 мкг на 1 кг массы тела больного. Во всех случаях для мобилизации СКК был использован гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ). Введение препарата продолжали в течение 3–12 дней до завершения сбора СКК. Перед процедурой лейкофереза определяли количество клеток $CD34^+$, циркулирующих в ПК, и при содержании 10 клеток $CD34^+$ и более в 1 мкл выполняли сбор СКК. Проводили от 1 до 5 сеансов лейкофереза в зависимости от эффективности стимуляции кроветворения и мобилизации СКК. Количество собранных за все процедуры лейкофереза клеток $CD34^+$ варьировало от $0,7 \times 10^6$ до $33,5 \times 10^6$ на 1 кг массы тела, в среднем – $(7,99 \pm 0,64) \times 10^6$ на 1 кг массы тела.

Химиотерапевтические режимы, предшествующие введению ростовых факторов, различались в зависимости от диагноза больного. При мобилизации СКК у 40 больных ММ использовали циклофосфамид в дозе 4 мг/м² с последующим введением Г-КСФ, у 9 больных СКК были мобилизованы с помощью Г-КСФ в монорежиме (в эту группу вошли больные ММ с почечной недостаточностью), 4 пациентам проводили различные курсы ХТ с последующим введением Г-КСФ. Всем пациентам с Т-ОЛЛ

мобилизацию СКК проводили с помощью Г-КСФ, на фоне предшествующей терапии по протоколу ОЛЛ-2009 после курса консолидации III или IV на не сниженных показателях ПК. При лимфоме Ходжкина использовали схемы R-DHAP (ритуксимаб, дексаметазон, высокодозный цитарабин, цисплатин) и циклофосфамид. При неходжкинских лимфомах у большинства больных применяли протокольный режим ХТ, включающий комбинацию нескольких химиопрепаратов (циклофосфамид, DHAP, R-DHAP, R-DA-EPOCH, R-NHL-BFM-90, TL-REZ, R-NMA) с последующим введением Г-КСФ.

Варианты мобилизации и сбора образцов представлены на рис. 1.

Среднее количество курсов ХТ до момента сбора СКК у больных ММ составило 8 (3–16), у больных лимфомами – 6 (1–9), у больных Т-ОЛЛ – 6 (5–6).

На момент начала лейкофереза у большинства больных был достигнут положительный ответ на проведенную терапию. Клинико-диагностическая характеристика больных представлена в табл. 1.

Образцы ПК больных исследовали до мобилизации, перед введением химиопрепаратов и/или Г-КСФ и в день лейкофереза до процедуры сбора СКК. Образцы ЛК исследовали в 1-й день сбора СКК. Анализировали следующие субпопуляции СКК: $CD34^+CD45^{low}CD38^-HLA-DR^-$, $CD34^+CD45^{low}CD38^-HLA-DR^+$, $CD34^+CD45^{low}CD38^+HLA-DR^-$, $CD34^+CD45^{low}CD38^+HLA-DR^+$, $CD34^+CD45^{low}CD143^+$. Суммарно выполнено 252 исследования ПК и ЛК.

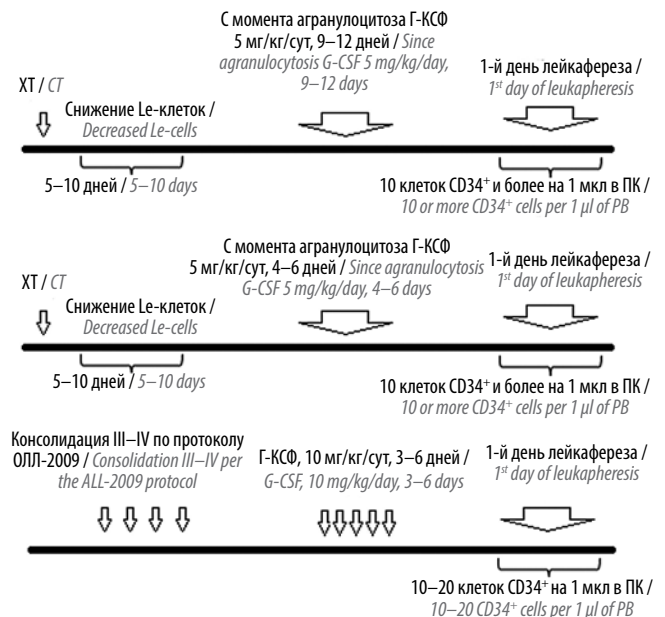


Рис. 1. Варианты мобилизации и сбора стволовых кроветворных клеток. ХТ – химиотерапия; Le – лейкоциты; Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; ПК – периферическая кровь; Т-ОЛЛ – острый Т-лимфобластный лейкоз
Fig. 1. Types of hematopoietic stem cell mobilization and collection. CT – chemotherapy; Le – leukocytes; G-CSF – granulocyte colony-stimulating factor; PB – peripheral blood; T-ALL – T-cell acute lymphoblastic leukemia

Таблица 1. Общая характеристика больных

Table 1. Patient characteristics

| Диагноз Diagnosis | n | Соотношение мужчин и женщин Ratio between men and women | Средний возраст (диапазон), лет Mean age (range), years | Полная ремиссия, n Full remission, n | Очень хороший частичный ответ, n Very good partial response, n | Частичная ремиссия, n Partial remission, n | Прогрессия, рецидив, n Progression, recurrence, n |
|--|----|---|--|--|---|---|--|
| Множественная миелома Multiple myeloma | 53 | 27/26 | 54 (35–67) | 12 | 25 | 15 | 1 |
| Лимфома Ходжкина и неходжкинские лимфомы Hodgkin's lymphoma and non-Hodgkin lymphomas | 20 | 9/11 | 44,5 (22–64) | 3 | – | 12 | 5 |
| T-лимфобластный лейкоз T-cell acute lymphoblastic leukemia | 7 | 4/3 | 33 (19–62) | 7 | – | – | – |

Определение экспрессии исследуемых популяций клеток проводили на проточном цитофлуориметре FACS Canto II (Beckton Dickinson, США) с использованием моноклональных антител к антигенам CD34 (8G12 – PE), CD45 (2D1 – FITC), CD38 (HIT2 – PerCP-Cy5.5), HLA-DR (L243 – PE-Cy7), CD143 (BB9 – APC) производства Beckton Dickinson (США). Перед окраской клеточной суспензии с помощью моноклональных антител клетки ПК и ЛК освобождали от эритроцитов методом лизиса и отмывки. Лизис проводили с помощью лизирующего раствора ParmLyse (Becton Dickinson, США) в течение 5–7 мин.

Статистический анализ данных проводили с помощью GraphPad Prism 6. Проверку нормальности распределения выполняли с использованием критерия Шапиро–Уилка. Данные представляли в виде среднего ± стандартная ошибка среднего. Для сравнения значений

доли субпопуляций СКК применяли критерий Краскела–Уоллиса (для ненормальных распределений). Для множественных сравнений использовали поправку Данна. Наличие корреляции субпопуляций стволовых клеток с возрастом, количеством предшествующих курсов ХТ оценивали с помощью расчета коэффициента Пирсона (для нормально распределенных величин) или Спирмена (для ненормально распределенных величин).

Результаты

Нами было оценено количество клеток CD34⁺CD45^{low} и CD34⁺CD45^{low}CD143⁺ в ПК перед мобилизацией и после нее и в ЛК у всех больных, включенных в исследование (табл. 2).

Больные ММ были разделены на 2 группы: 1-я группа с режимом мобилизации «ХТ + Г-КСФ», 2-я – «Г-КСФ в монорезиме».

Таблица 2. Количество клеток CD34⁺CD45^{low} и CD34⁺CD45^{low}CD143⁺ в периферической крови перед мобилизацией и после нее и в лейкоконцентратах у больных гемобластомами

Table 2. CD34⁺CD45^{low} and CD34⁺CD45^{low}CD143⁺ cell counts in peripheral blood before and after mobilization and in leukocyte concentrates of patients with hemoblastoses

| Клетки Cells | Периферическая кровь, % Peripheral blood, % | | Лейкоконцентраты, % Leukocyte concentrates, % |
|--|--|---|--|
| | перед мобилизацией prior to mobilization | после мобилизации after mobilization | |
| CD34 ⁺ CD45 ^{low} | 0,04 ± 0,01 | 0,65 ± 0,09* | 1,40 ± 0,18** |
| CD34 ⁺ CD45 ^{low} CD143 ⁺ | 10,44 ± 1,21 | 45,70 ± 1,76* | 45,52 ± 1,85 |

*Наличие достоверных различий в периферической крови до мобилизации и после нее.

**Наличие достоверных различий в периферической крови после мобилизации и в лейкоконцентратах.

*Significant differences in peripheral blood before and after mobilization.

**Significant differences in peripheral blood after mobilization and in leukocyte concentrates.

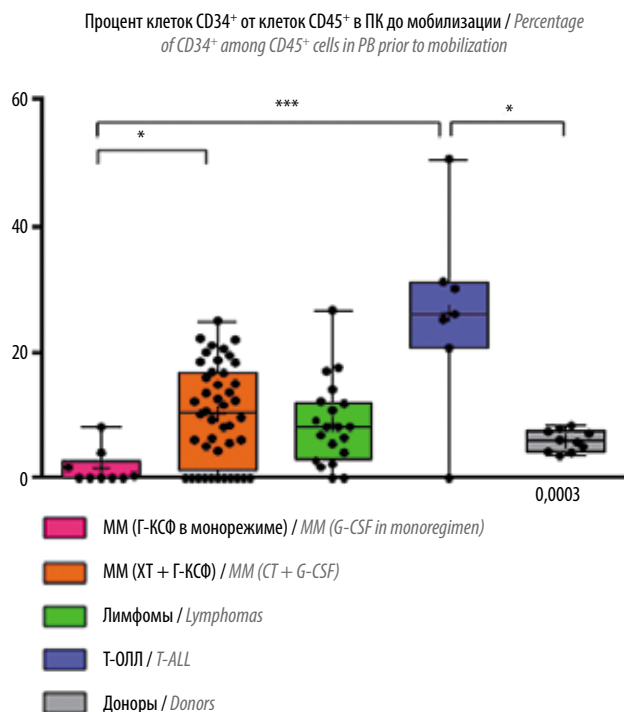


Рис. 2. Количество клеток $CD34^+CD45^{low}CD143^+$ в периферической крови (ПК) до мобилизации стволовых кроветворных клеток у больных множественной миеломой (ММ), лимфомами, острым Т-лимфобластным лейкозом (Т-ОЛЛ), доноров. Звездочками указано наличие достоверных различий между группами пациентов (* $p < 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$; **** $p \leq 0,0001$). Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; ХТ – химиотерапия

Fig. 2. $CD34^+CD45^{low}CD143^+$ cell counts in peripheral blood (PB) prior to mobilization of hematopoietic stem cells in patients with multiple myeloma (MM), lymphoma, T-cell acute lymphoblastic lymphoma (T-ALL), donors. Asterisks denote significant differences between the patient groups (* $p < 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$; **** $p \leq 0.0001$). G-CSF – granulocyte colony-stimulating factor; CT – chemotherapy

Выявлены достоверно значимые различия в количестве клеток $CD34^+CD45^{low}CD143^+$ у больных ММ в зависимости от режима мобилизации. У больных с режимом мобилизации «ХТ + Г-КСФ» количество клеток $CD34^+CD45^{low}CD143^+$ было больше, чем у больных с мобилизацией «Г-КСФ в монорегиме» в ПК перед мобилизацией (рис. 2).

В ПК перед мобилизацией не выявлено существенных различий в количестве клеток $CD34^+CD45^{low}$ у больных ММ, лимфомами, Т-ОЛЛ и доноров (рис. 3). У больных Т-ОЛЛ количество клеток $CD34^+CD45^{low}$ было незначительно больше, чем у других групп больных и доноров, однако статистически значимых различий не получено. Выявлены различия экспрессии АПФ на клетках $CD34^+CD45^{low}$. Количество клеток $CD34^+CD45^{low}CD143^+$ перед мобилизацией было достоверно больше у больных лимфомами, чем у больных ММ, Т-ОЛЛ и у доноров.

В образцах ПК перед мобилизацией не определено существенных различий в числе клеток $CD34^+CD45^{low}CD38^{+/-}$, $CD34^+CD45^{low}HLA-DR^{+/-}$ у больных ММ, лимфомами, Т-ОЛЛ и у доноров.

В табл. 3 представлена динамика количества клеток $CD34^+CD45^{low}$ и субпопуляций СКК в ПК перед

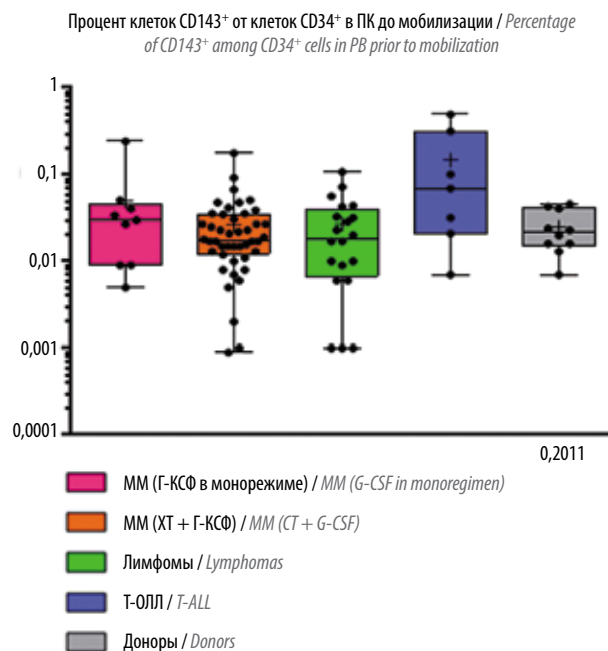


Рис. 3. Количество клеток $CD34^+CD45^{low}$ в периферической крови (ПК) до мобилизации стволовых кроветворных клеток у больных множественной миеломой (ММ), лимфомами, острым Т-лимфобластным лейкозом (Т-ОЛЛ), доноров. Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; ХТ – химиотерапия

Fig. 3. $CD34^+CD45^{low}$ cell counts in peripheral blood (PB) prior to mobilization of hematopoietic stem cells in patients with multiple myeloma (MM), lymphoma, T-cell acute lymphoblastic lymphoma (T-ALL), donors. G-CSF – granulocyte colony-stimulating factor; CT – chemotherapy

мобилизацией и после нее и в ЛК у больных ММ, лимфомами, Т-ОЛЛ, доноров.

Количество клеток $CD34^+CD45^{low}$ у больных ММ (ХТ + Г-КСФ) и лимфомами было статистически значимо меньше в ПК перед мобилизацией, чем в ПК после мобилизации, в отличие от больных ММ (Г-КСФ в монорегиме), Т-ОЛЛ и доноров. В ЛК содержание клеток $CD34^+CD45^+$ было статистически значимо больше, чем в ПК перед мобилизацией у больных ММ (ХТ + Г-КСФ), лимфомами и Т-ОЛЛ.

У всех больных и у доноров содержание клеток $CD34^+CD45^{low}CD143^+$ статистически значимо ниже в ПК перед мобилизацией, чем в ПК после мобилизации и в ЛК. Выявлены достоверные различия в количестве клеток $CD34^+CD45^{low}CD38^+HLA-DR^-$ перед мобилизацией и после нее у больных ММ (ХТ + Г-КСФ) и лимфомами. Так, содержание этих клеток статистически значимо больше в ПК перед мобилизацией, чем в ПК после мобилизации и в ЛК. Поскольку соотношение субпопуляций СКК ($CD34^+CD45^{low}CD38^{+/-}HLA-DR^{+/-}$, $CD34^+CD45^{low}CD143^{+/-}$) в ПК после мобилизации и в ЛК было сопоставимым, дальнейшую оценку результатов проводили только в ЛК.

При исследовании СКК после мобилизации в ЛК выявлены различия в процентном содержании клеток $CD34^+CD45^{low}$ у различных больных и доноров. Так, у доноров их количество составило $0,17 \pm 0,08 \%$

Таблица 3. Динамика количества клеток CD34⁺CD45^{low} и субпопуляций стволовых кроветворных клеток в периферической крови перед мобилизацией и после нее и в лейкоконцентраатах у больных ММ, лимфомами, Т-ОЛЛ, доноров

Table 3. Dynamics of CD34⁺CD45^{low} cell counts and hematopoietic stem cell subpopulations in peripheral blood before and after mobilization and in leukocyte concentrates in patients with MM, lymphomas, T-ALL, donors

| Группа пациентов Patients group | Материал исследования Studied material | Стволовые кроветворные клетки, % Hematopoietic stem cell, % | Субпопуляции стволовых кроветворных клеток, % Hematopoietic stem cell subpopulations, % | | | | |
|---|---|--|--|--|--|--|---|
| | | CD34 ⁺ CD45 ^{low} | CD34 ⁺ CD45 ^{low} CD38 ⁻ HLA-DR ⁻ | CD34 ⁺ CD45 ^{low} CD38 ⁻ HLA-DR ⁺ | CD34 ⁺ CD45 ^{low} CD38 ⁺ HLA-DR ⁻ | CD34 ⁺ CD45 ^{low} CD38 ⁺ HLA-DR ⁺ | CD34 ⁺ CD45 ^{low} CD143 ⁺ |
| ММ (ХТ + Г-КСФ) ММ (CT+G-CSF) | ПК перед мобилизацией PB before mobilization | 0,03 ± 0,01* | 0 | 0,02 ± 0,02 | 9,12 ± 1,2* | 88,21 ± 2,38 | 10,25 ± 1,18* |
| | ПК после мобилизации PB after mobilization | 0,8 ± 0,15* | 0 | 0,12 ± 0,04 | 2,63 ± 0,44* | 97,08 ± 0,43 | 53,7 ± 1,62* |
| | ЛК LC | 1,47 ± 0,22** | 0 | 0,2 ± 0,07 | 3,13 ± 0,7** | 96,05 ± 0,92 | 53,11 ± 1,62** |
| ММ (Г-КСФ в монорегиме) ММ (G-CSF monoregimen) | ПК перед мобилизацией PB before mobilization | 0,05 ± 0,03 | 0 | 0 | 5,22 ± 1,9 | 94,78 ± 1,9 | 1,57 ± 0,93* |
| | ПК после мобилизации PB after mobilization | 0,19 ± 0,1 | 0 | 0 | 4,59 ± 1,04 | 95,39 ± 1,05 | 28,53 ± 6,19* |
| | ЛК LC | 0,37 ± 0,15 | 0 | 0 | 3,17 ± 0,93 | 96,84 ± 0,3 | 23,1 ± 6,21** |
| Лимфомы Lymphomas | ПК перед мобилизацией PB before mobilization | 0,03 ± 0,01* | 0,08 ± 0,04 | 0,47 ± 0,22 | 8,43 ± 1,14* | 91,16 ± 1,17 | 8,65 ± 1,49* |
| | ПК после мобилизации PB after mobilization | 0,78 ± 0,22* | 0,05 ± 0,02 | 0,84 ± 0,28 | 3,81 ± 0,94* | 95,13 ± 0,97 | 39,6 ± 3,04* |
| | ЛК LC | 1,84 ± 0,46** | 0,07 ± 0,03 | 0,73 ± 0,2 | 3,26 ± 0,67** | 95,94 ± 0,78 | 41,5 ± 3,5** |
| Т-ОЛЛ T-ALL | ПК перед мобилизацией PB before mobilization | 0,15 ± 0,07* | 0 | 0 | 7,47 ± 2,01 | 92,4 ± 2,0 | 26,3 ± 5,67* |
| | ПК после мобилизации PB after mobilization | 0,37 ± 0,13 | 0,09 ± 0,04 | 0,33 ± 0,15 | 4,13 ± 0,65 | 95,67 ± 0,68 | 39,8 ± 2,28* |
| | ЛК LC | 1,28 ± 0,07** | 0,36 ± 0,22 | 0,33 ± 0,13 | 5,29 ± 1,41 | 94,03 ± 1,72 | 43,7 ± 3,29** |
| Доноры Donors | ПК перед мобилизацией PB before mobilization | 0,03 ± 0,01 | 0 | 0 | 7,23 ± 1,36 | 92,77 ± 1,36 | 6,13 ± 0,57* |
| | ЛК LC | 0,17 ± 0,08 | 0,11 ± 0,07 | 0,41 ± 0,23 | 10,92 ± 1,9 | 88,55 ± 1,94 | 20,4 ± 3,22** |

*Наличие достоверных различий в периферической крови до мобилизации и после нее.

**Наличие достоверных различий в периферической крови перед мобилизацией и в лейкоконцентраатах.

*Significant differences in peripheral blood before and after mobilization.

**Significant differences in peripheral blood before mobilization and leukocyte concentrates.

Примечание. ММ – множественная миелома; ХТ – химиотерапия; Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; ПК – периферическая кровь; ЛК – лейкоконцентраты; Т-ОЛЛ – Т-лимфобластный лейкоз.

Note. MM – multiple myeloma; CT – chemotherapy; G-CSF – granulocyte colony-stimulating factor; PB – peripheral blood; LC – leukocyte concentrate; T-ALL – T-cell acute lymphoblastic leukemia.

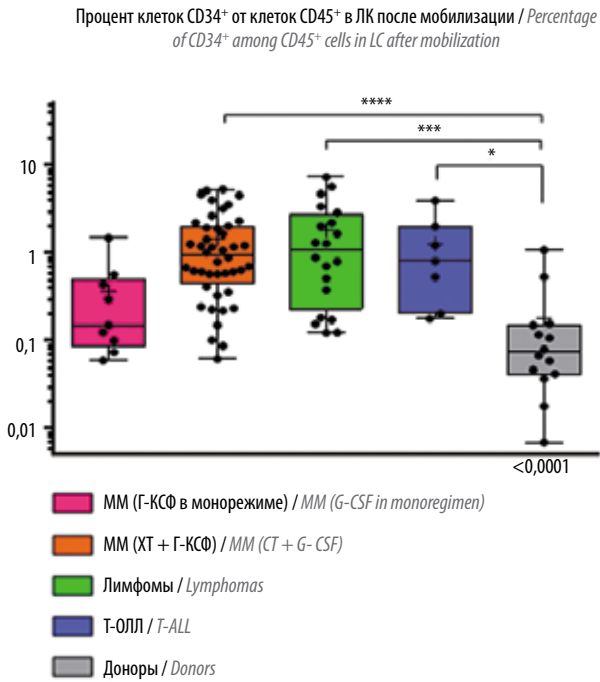


Рис. 4. Количество клеток $CD34^+CD45^{low}$ в лейкоконцентратах (ЛК) у больных множественной миеломой (ММ), лимфомами, острым Т-лимфобластным лейкозом (Т-ОЛЛ), доноров. Звездочками указано наличие достоверных различий между группами пациентов (* $p < 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$; **** $p \leq 0,0001$). ЛК – лейкоконцентраты; Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; ХТ – химиотерапия

Fig. 4. $CD34^+CD45^{low}$ cell counts in leukocyte concentrates (LC) in patients with multiple myeloma (MM), lymphoma, T-cell acute lymphoblastic lymphoma (T-ALL), donors. Asterisks denote significant differences between the patient groups (* $p < 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$; **** $p \leq 0.0001$). LC – leukocyte concentrates; G-CSF – granulocyte colony-stimulating factor; CT – chemotherapy

и было статистически значимо ниже, чем у больных лимфомами, Т-ОЛЛ, ММ (ХТ + Г-КСФ) – $1,84 \pm 0,46$; $1,28 \pm 0,51$ и $1,47 \pm 0,22$ % соответственно ($p < 0,05$). Вероятно, эти различия обусловлены отсутствием у доноров цитостатического воздействия, предшествующего введению ростовых факторов. Достоверно значимых различий в содержании клеток $CD34^+CD45^{low}$ у доноров и больных ММ с мобилизацией «Г-КСФ в монорежиме» не выявлено (рис. 4).

Количество клеток $CD34^+CD45^{low}CD143^+$ в ЛК было меньше у доноров и больных ММ с мобилизацией «Г-КСФ в монорежиме», чем у больных лимфомами, Т-ОЛЛ и ММ (ХТ + Г-КСФ) ($p < 0,005$).

От 69,9 до 100 % мобилизованных стволовых клеток $CD34^+CD45^{low}$ экспрессировали CD38, HLA-DR. Процент клеток $CD38^+HLA-DR^-$ был статистически значимо больше в ПК до мобилизации СКК. После мобилизации увеличилось содержание $CD38^+HLA-DR^+$ (рис. 5).

Наиболее ранние клетки-предшественницы $CD34^+CD45^{low}$, не экспрессирующие CD38 и HLA-DR, практически не выявлялись до мобилизации СКК и после нее. В ЛК у 1 больного Т-ОЛЛ обнаружено 1,5 % клеток $CD34^+CD45^{low}CD38^-HLA-DR^-$.

Найдены различия в субпопуляции клеток $CD34^+CD45^{low}CD38^+HLA-DR^+$ после мобилизации СКК в зависимости от диагноза. Так, содержание этой популяции клеток у больных лимфомами статистически достоверно больше, чем у больных ММ и Т-ОЛЛ ($p < 0,005$).

Для выявления связи полноты ответа на терапию (полная ремиссия, очень хороший частичный ответ,

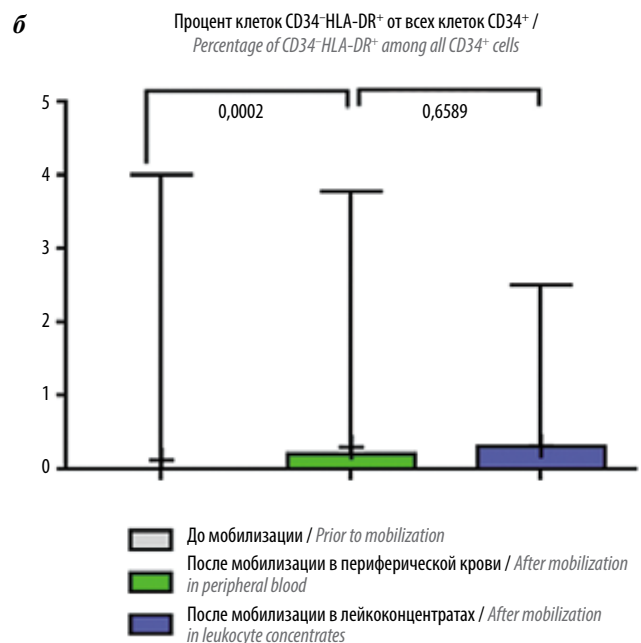
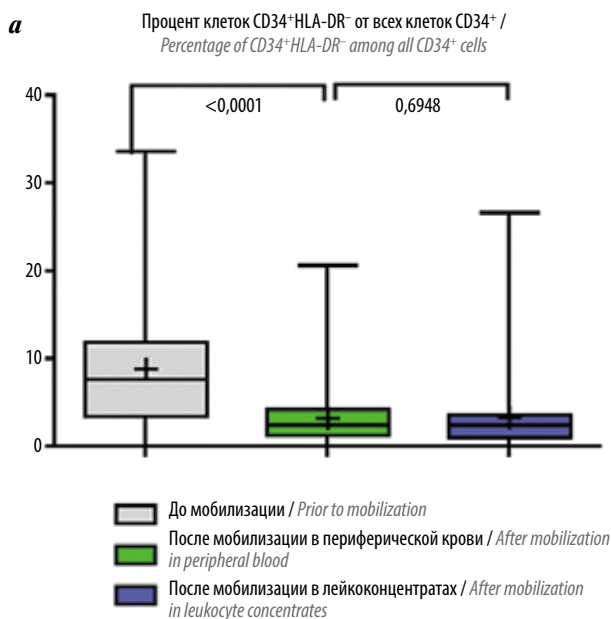


Рис. 5. Количество клеток $CD34^+CD45^{low}CD38^+HLA-DR^-$ (а) и $CD34^+CD45^{low}CD38^+HLA-DR^+$ (б) до мобилизации и после нее у больных и доноров

Fig. 5. $CD34^+CD45^{low}CD38^+HLA-DR^-$ cell counts (a) and $CD34^+CD45^{low}CD38^+HLA-DR^+$ cell counts (b) before and after mobilization in patients and donors

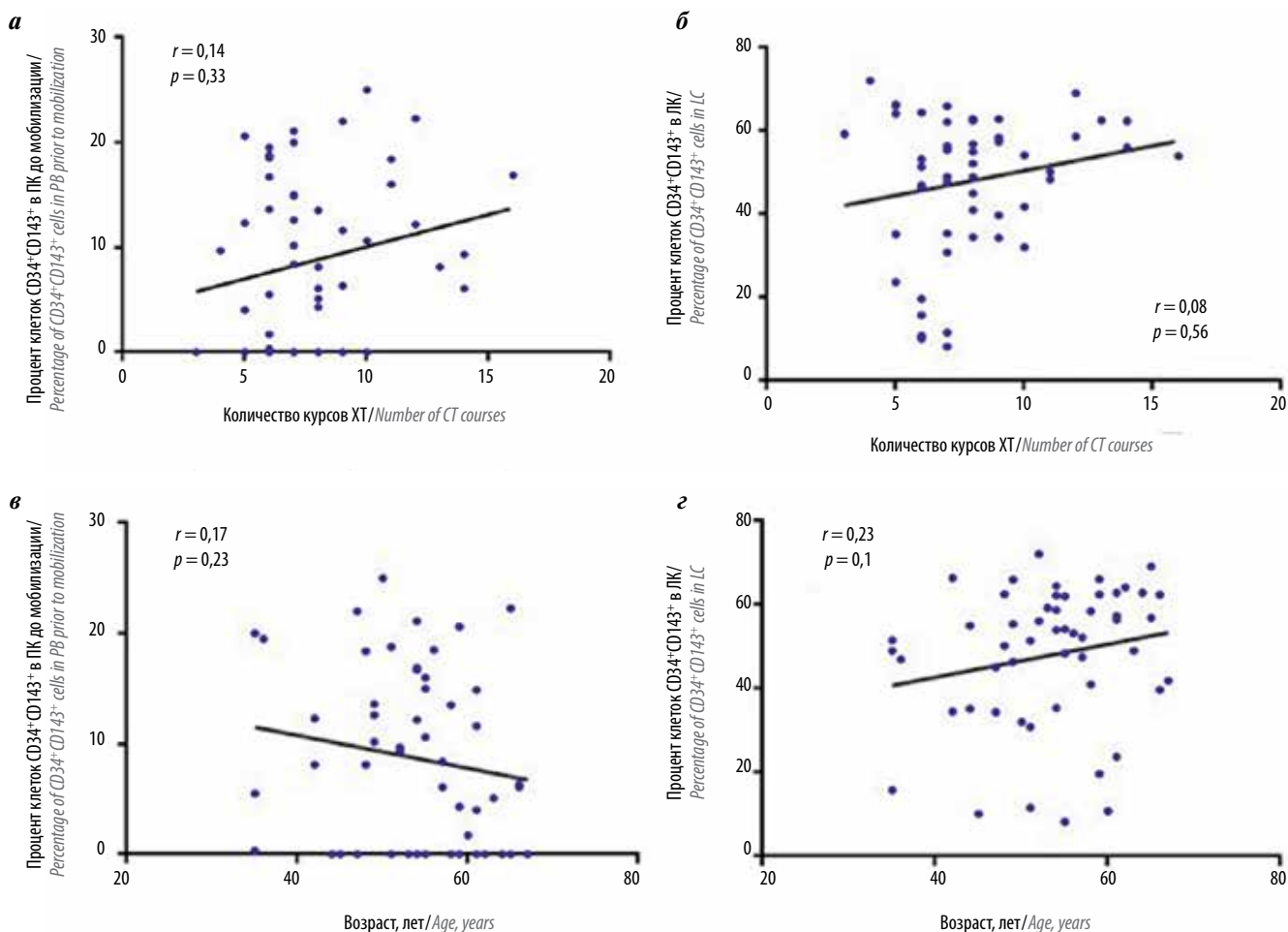


Рис. 6. Динамика количества клеток CD34⁺CD45^{low}CD143⁺ в периферической крови (ПК) до мобилизации (а, в) и в лейкоконцентраатах (ЛК) (б, з) в зависимости от числа курсов химиотерапии (ХТ) и возраста у больных множественной миеломой
Fig. 6. Dynamics of CD34⁺CD45^{low}CD143⁺ cell counts in peripheral blood (PB) prior to mobilization (a, в) and in leukocyte concentrates (LC) (б, з) depending on the number of chemotherapy (CT) courses and age in patients with multiple myeloma

частичная ремиссия) с количеством клеток CD34⁺CD45^{low} и CD34⁺CD45^{low}CD143⁺ была рассмотрена группа больных ММ. Число этих клеток в зависимости от полноты ответа достоверно не различалось как до мобилизации СКК, так и после нее. Также не выявлено статистически значимых различий содержания клеток CD34⁺CD45^{low}CD143⁺ у больных этой группы в зависимости от пола, возраста и количества курсов ХТ (рис. 6).

Обсуждение

Характеристика гемопоэтических клеток-предшественниц, которая необходима для выявления субпопуляций с наибольшим пролиферативным и дифференцировочным потенциалом, является одним из современных направлений в исследовании СКК.

Имеется достаточный объем данных о влиянии отдельных популяций стволовых клеток на скорость восстановления того или иного ростка кроветворения. Тем не менее до сих пор четко не определено, какая субпопуляция циркулирующих гемопоэтических клеток-предшественниц является значимой для раннего

и/или позднего посттрансплантационного восстановления кроветворения.

Антиген CD34 экспрессируется на всех этапах дифференцировки СКК. Показано, что при достаточной морфологической однородности клетки CD34⁺ гетерогенны по функциональным свойствам и пролиферативной активности. Репопулирующая способность и потенциал пролиферации снижаются по мере дифференцировки клетки от истинно стволовой до унипотентной [6]. Наиболее ранние СКК с неограниченным потенциалом пролиферации и дифференцировки были обнаружены в популяции клеток CD34⁺CD38⁻HLA-DR⁻, однако с учетом сложности их выделения многие исследователи изучали отдельно популяции CD34⁺CD38⁻ и CD34⁺HLA-DR⁻ [7–9, 14, 15].

Результаты исследований L.S. Rusten и соавт. показали, что субпопуляции клеток костного мозга как CD34⁺CD38⁻, так и CD34⁺HLA-DR⁻ являются примитивными гемопоэтическими клетками-предшественницами. Причем фракция клеток CD34⁺CD38⁻ содержит большее количество клеток ранних этапов

дифференцировки (популяция клеток, инициирующих рост долгосрочных клеточных культур костного мозга) с высоким потенциалом пролиферации, тогда как клетки $CD34^+HLA-DR^-$ содержат более выраженное количество эритроидных предшественниц [16]. Было показано, что эмбриональные костномозговые предшественницы $CD34^+CD38^-HLA-DR^+$ обладают свойствами истинно стоволовых кроветворных клеток и обеспечивают длительное и устойчивое восстановление как лимфоидных, так и миелоидных линий кроветворения, в отличие от популяции $CD34^+CD38^+HLA-DR^-$ [17, 18].

Поскольку клетки $CD34^+CD38^-HLA-DR^-$ являются наиболее ранней субпопуляцией СКК, следовательно, их пролиферация и дифференцировка требуют большего времени, чем пролиферация коммитированных клеток-предшественниц.

Аналогично предыдущим исследованиям [19] в нашей работе практически не выявлена фракция клеток $CD34^+CD45^{low}$, не экспрессирующих $CD38$ и $HLA-DR$. Только у 1 больного количество клеток $CD34^+CD45^{low}CD38^-HLA-DR^-$ было более 1 %. Однако показано, что до мобилизации и после нее меняется субпопуляционный состав СКК. После мобилизации преобладают клетки $CD34^+CD45^{low}CD38^-HLA-DR^+$, т. е. с большим пролиферативным потенциалом, тогда как до мобилизации преобладают клетки $CD34^+CD45^{low}CD38^+HLA-DR^-$. Были выявлены различия в количестве клеток $CD34^+CD45^{low}CD38^+HLA-DR^-$ в зависимости от диагноза: описываемая популяция клеток была больше у пациентов с лимфомами, чем у пациентов с ММ и Т-ОЛЛ. Наиболее вероятным объяснением представляется отсутствие поражения костного мозга у большинства больных лимфомами, у 15 из 20 пациентов отсутствовало специфическое поражение костного мозга в дебюте заболевания.

Как уже было неоднократно ранее показано [20], статистически значимо большее количество клеток $CD34^+CD45^{low}$ в ПК после мобилизации и в ЛК было у больных, которым применялись режимы, сочетающие ХТ и Г-КСФ.

В 1996 г. I. C. Haznedaroglu и соавт. предположили, что в костном мозге есть локальная РАС, влияющая на рост, продукцию, пролиферацию и дифференцировку кроветворных клеток и участвующая в регуляции как нормального, так и патологического гемопоэза [21]. Это участие РАС в регуляции кроветворения может осуществляться либо с помощью прямого воздействия на гемопоэтические стволовые клетки, либо через стимуляцию высвобождения факторов роста и цитокинов из стромальных клеток [22].

Компоненты РАС присутствуют даже в эмбриональном кроветворении. Изучение культур человеческих эмбриональных стволовых клеток показало,

что часть эндотелиальных и лимфогемopoэтических стволовых клеток с иммунофенотипом $CD143^+CD34^{+/-}CD45^-$ является гемангиобластами. После дифференцировки из гемангиобластов гемопоэтические клетки-предшественницы экспрессируют АПФ на всех стадиях гемопоэтического онтогенеза [23].

Нами была впервые изучена экспрессия АПФ на клетках $CD34^+CD45^{low}$ в ПК перед мобилизацией СКК и после нее и в ЛК. Показано, что $CD143$ экспрессируется на клетках $CD34^+CD45^{low}$ до и после мобилизации у всех пациентов и доноров, но количество клеток $CD34^+CD45^{low}CD143^+$ различалось в зависимости от диагноза и режимов мобилизации. После стимуляции кроветворения количество клеток $CD34^+CD45^{low}CD143^+$ увеличивалось, наряду с повышением количества клеток $CD34^+$, что может говорить об участии АПФ в пролиферации СКК.

Как количество клеток $CD34^+CD45^+$, так и экспрессия $CD143^+$ на клетках $CD34^+CD45^{low}$ были статистически значимо больше у больных, которым применяли режимы, сочетающие ХТ и Г-КСФ, чем у доноров и больных ММ с мобилизацией «Г-КСФ в монорежиме».

В нашем исследовании не выявлено корреляции статуса заболевания (полная ремиссия, очень хороший частичный ответ, частичная ремиссия) с количеством клеток $CD34^+CD45^{low}$ и $CD34^+CD45^{low}CD143^+$ у больных ММ. Не установлены различия между количеством клеток $CD34^+CD45^{low}CD143^+$ у этой группы больных в зависимости от пола, возраста и числа курсов ХТ, предшествующих мобилизации СКК.

Заключение

Таким образом, показано увеличение содержания клеток $CD34^+CD45^{low}$, экспрессирующих АПФ ($CD143$) в ПК и ЛК у больных гемобластомами после мобилизации СКК. Подтверждено достоверно большее увеличение клеток $CD34^+CD45^{low}CD143^+$ у пациентов после мобилизации СКК с применением ХТ и Г-КСФ в отличие от мобилизации «Г-КСФ в монорежиме».

Среди мобилизованных СКК присутствует субпопуляция стволовых клеток с иммунофенотипом $CD34^+CD45^{low}CD38^-HLA-DR^+$, т. е. популяция клеток ранних этапов дифференцировки с высоким потенциалом пролиферации. Наиболее ранние клетки $CD34^+CD45^{low}$, не экспрессирующие $CD38$, $HLA-DR$, практически не были выявлены как до мобилизации, так и после нее.

Дальнейшее изучение иммунофенотипа популяций гемопоэтических СКК и сопоставление с клиническими данными, темпами и полнотой восстановления кроветворения позволят оценить роль каждой отдельной субпопуляции при трансплантации СКК.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Civin C.I., Strauss L.C., Brovall C. et al. Antigenic analysis of hematopoiesis III. A hematopoietic progenitor cell surface antigen defined by a monoclonal antibody raised against KG-1a cells. *J Immunol* 1984;133(1):157–64.
2. Shpall E.J., Champlin R., Glaspy J.A. Effect of CD34⁺ peripheral blood progenitor cell dose on hematopoietic recovery. *Biol Blood Marrow Transplant* 1998;4(2): 84–92. DOI: 10.1053/bbmt.1998.v4.
3. Siena S., Bregni M., Brando B. et al. Circulation of CD34⁺ hematopoietic stem cells in the peripheral blood of high dose cyclophosphamide treated patients: enhancement by intravenous recombinant human granulocyte macrophage colony stimulating factor. *Blood* 1989;74:1905–14.
4. Allan D.S., Keeney M., Howson-Jan K. et al. Number of viable CD34⁺ cells rein fused predicts engraftment in autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transpl* 2002;29:967–72. DOI: 10.1038/sj.bmt.1703575.
5. Thomas M.L. The leukocyte common antigen family. *Rev Immunol* 1989;7:339–69. DOI: 10.1146/annurev.iv.07.040189.002011.
6. Allan D.S., Keeney M., Howson-Jan K. et al. Number of viable CD34⁺ cells rein fused predicts engraftment in autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transpl* 2002;29:967–72. DOI: 10.1038/sj.bmt.1703575.
7. Brandt J., Baird N., Lu L. et al. Characterization of a human hematopoietic progenitor cell capable of forming blast cell containing colonies *in vitro*. *Clin Invest* 1988;82(3):1017–23. DOI: org/10.1172/JCI113658.
8. Issaad C., Croisille L., Katz A. et al. A murine stromal cell line allows the proliferation of very primitive human CD34⁺/CD38⁻ progenitor cells in long-term cultures and semisolid assays. *Blood* 1993;81(11):2916–24.
9. Srour E.F., Brandt J.E., Briddell R.A. et al. Human CD34⁺ HLA-DR⁻ bone marrow cells contain progenitor cells capable of self-renewal, multilineage differentiation, and long-term *in vitro* hematopoiesis. *Blood Cells* 1991;17(2):287–95.
10. Paul M., Mehr A.P., Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol* 2006;86(3):787–803. DOI: 10.1152/physrev.00036.2005.
11. Harmer D., Gilbert M., Borman R., Clark K.L. Quantitative mRNA expression profiling of ACE 2, a novel homologue of angiotensin converting enzyme. *FEBS Lett* 2002;532(1–2):107–10.
12. Jokubaitis V.J., Sinka L., Driessen R. et al. Angiotensin converting enzyme (CD143) marks hematopoietic stem cells in human embryonic, fetal and adult hematopoietic tissues. *Blood* 2008;111(8):4055–63. DOI: 10.1182/blood-2007-05-091710.
13. Dercksen M.W., Rodenhuis S., Dirkson M.K. et al. Subset of CD34⁺ cells and rapid hematopoietic recovery after peripheral blood stem cell transplantation. *J Clin Oncol* 1995;13:1922–32. DOI: 10.1200/JCO.1995.13.8.1922.
14. Brandt J., Briddell R.A., Srour E.F. et al. Role of c-kit ligand in the expansion of human hematopoietic progenitor cells. *Blood* 1992;79:634–41.
15. Won E.J., Kim H.R., Park R.Y. et al. Direct confirmation of quiescence of CD34⁺CD38⁻ leukemia stem cell populations using single cell culture, their molecular signature and clinicopathological implications. *BMC Cancer* 2015;15:217–21. DOI: 10.1186/s12885-015-1233-x.
16. Rusten L.S. Functional differences between CD38⁻ and DR⁻ subfractions of CD34⁺ bone marrow cells. *Blood* 1994;84(5):1473–81.
17. Huang S., Terstappen L.W. Formation of haematopoietic microenvironment and haematopoietic stem cells from single human bone marrow stem cells. *Nature* 1992;360(6406):745–9. DOI: 10.1038/360745a0.
18. Huang S., Terstappen L.W. Lymphoid and myeloid differentiation of single human CD34⁺, HLA-DR⁻, CD38⁻ hematopoietic stem cells. *Blood* 1994;83(6):1515–26.
19. Гривцова Л.Ю., Тупицын Н.Н. Субпопуляции трансплантируемых стволовых кроветворных клеток. *Современная онкология* 2006;1:43–8. [Gritsova L.Yu., Tupitsyn N.N. Subpopulations of transplantable hematopoietic stem cells. *Sovremennaya onkologiya = Contemporary Oncology* 2006;1:43–8. (In Russ.)].
20. Гальцева И.В., Давыдова Ю.О., Гапонова Т.В. и др. Абсолютное количество гемопоэтических стволовых клеток CD34⁺ в периферической крови перед процедурой лейкофереза как параметр, прогнозирующий эффективность сбора стволовых клеток. *Терапевтический архив* 2017;89(7):18–24. DOI: 10.17116/terarkh201789718-24. [Galtseva I.V., Davydova Yu.O., Gaponova T.V. et al. The absolute number of CD34⁺ hematopoietic stem cells in the peripheral blood before the leukapheresis procedure as a parameter predicting the efficiency of stem cell collection. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archives* 2017;89(7):18–24. (In Russ.)].
21. Haznedaroğlu I.C., Tuncer S., Gürsoy M. A local renin-angiotensin system in the bone marrow. *Med Hypotheses* 1996;46(6):507–10.
22. Hubert C., Savary K., Gasc J.M. et al. The hematopoietic system: a new niche for the renin-angiotensin system. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006;3(2):80–5. DOI: 10.1038/ncpcardio0449.
23. Zambidis E.T., Park T.S., Yu W. et al. Expression of angiotensin-converting enzyme (CD143) identifies and regulates primitive hemangioblasts derived from human pluripotent stem cells. *Blood* 2008;112(9):3601–14. DOI: 10.1182/blood-2008-03-144766.

Вклад авторов

М.Л. Канаева: разработка концепции и дизайна исследования, написание текста статьи, сбор и анализ данных литературы;
 И.В. Гальцева: интерпретация данных, участие в написании текста статьи;
 Е.Н. Паровичникова: разработка концепции, участие в написании текста статьи;
 Ю.О. Давыдова: анализ полученных данных;
 Т.В. Гапонова, Е.О. Грибанова, Л.А. Кузьмина, В.В. Троицкая, С.К. Кравченко, Е.Е. Звонков, Л.П. Менделеева: предоставление материалов для исследования;
 Я.Б. Бальжанова: обзор публикаций по теме статьи;
 В.Г. Савченко: научное редактирование, утверждение статьи.

Authors' contributions

M.L. Kanaeva: article concept and design development, article writing, collection and analysis of literature data;
 I.V. Galtseva: interpretation of data, participation in the writing of the article;
 E.N. Parovichnikova: article design development, participation in the writing of the article;
 Yu.O. Davydova: analysis of the obtained data;
 T.V. Gaponova, E.O. Gribanova, L.A. Kuzmina, V.V. Troitskaya, S.K. Kravchenko, E.E. Zvonkov, L.P. Mendeleeva: providing materials for research;
 Ya.B. Balzhanova: reviewing of publications on the article's topic;
 V.G. Savchenko: article editing, article approval.

ORCID авторов/ORCID of authors

М.Л. Канаева/M.L. Kanaeva: <https://orcid.org/0000-0001-6840-6152>
И.В. Гальцева/I.V. Galtseva: <https://orcid.org/0000-0002-8490-6066>
Е.Н. Паровичникова/E.N. Parovichnikova: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>
Ю.О. Давыдова/Yu.O. Davydova: <https://orcid.org/0000-0001-5932-0285>
Т.В. Гапонова/T.V. Gaponova: <https://orcid.org/0000-0002-9684-5045>
Е.О. Грибанова/E.O. Gribanova: <https://orcid.org/0000-0002-4155-7820>
Я.Б. Бальжанова/Ya.B. Balzhanova: <https://orcid.org/0000-0001-8973-9407>
Л.А. Кузьмина/L.A. Kuzmina: <https://orcid.org/0000-0001-6201-6276>
В.В. Троицкая/V.V. Troitskaya: <https://orcid.org/0000-0002-4827-8947>
С.К. Кравченко/S.K. Kravchenko: <https://orcid.org/0000-0002-7721-2074>
Е.Е. Звонков/E.E. Zvonkov: <https://orcid.org/0000-0002-4223-2366>
Л.П. Менделеева/L.P. Mendeleeva: <https://orcid.org/0000-0002-4966-8146>
В.Г. Савченко/V.G. Savchenko: <https://orcid.org/0000-0001-8188-5557>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.
Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Разработка *ex vivo*-модели и оценка химиочувствительности бластных клеток в индивидуализации терапии острых миелоидных лейкозов

А.С. Поляков, Я.А. Носков, Ю.В. Никитин, В.В. Тыренко, С.Н. Колюбаева, А.Н. Богданов, В.Н. Семелев, О.Р. Петрова, С.В. Бондарчук, Д.К. Жоголев, А.Д. Золотарёв, А.В. Ковалев, Ю.Е. Пучкова

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России;
Россия, 194044 Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

Контакты: Алексей Сергеевич Поляков doctorpolyakov@gmail.com

Несмотря на постоянные попытки совершенствования терапии, исходы острых миелоидных лейкозов остаются практически неизменными уже на протяжении нескольких десятилетий. Пока не оправдывают надежд на изменение ситуации даже перспективные препараты, создаваемые с учетом более глубокого понимания биологии лейкозов. По-прежнему наилучшие результаты достигаются лишь при высокодозной индукционной химиотерапии, применение которой возможно только у ограниченного числа пациентов. Высокая фенотипическая и генотипическая разнородность миелоидных лейкозов определяет актуальность развития персонализированных подходов к терапии, в том числе основанных на определении индивидуальной химиочувствительности опухолевых клеток.

В статье представлены результаты разработки модели острого миелоидного лейкоза *ex vivo*, а также апробации 2 методов исследования химиочувствительности *in vitro*: оценки генотоксичности противоопухолевых препаратов в микроядерном тесте, а также жизнеспособности и химиочувствительности отсортированных бластных клеток. Определены перспективы индивидуализированной терапии миелоидных лейкозов на основании внедрения и дальнейшего совершенствования результатов работы.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз, вторичный острый миелоидный лейкоз, модель *ex vivo*, химиочувствительность *in vitro*, генотоксичность, микроядерный тест, сортировка клеток, индивидуализация терапии

Для цитирования: Поляков А.С., Носков Я.А., Никитин Ю.В. и др. Разработка *ex vivo*-модели и оценка химиочувствительности бластных клеток в индивидуализации терапии острых миелоидных лейкозов. Онкогематология 2019;14(2):59–69.

DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-2-59-69

Ex vivo-model design and evaluation of the sensitivity of blast cells to chemotherapy as a way to personalize the treatment of acute myeloid leukemia

A.S. Polyakov, Ya.A. Noskov, Yu.V. Nikitin, V.V. Tyrenko, S.N. Kolubaeva, A.N. Bogdanov, V.N. Semelev, O.R. Petrova, S.V. Bondarchuk, D.K. Zhogolev, A.D. Zolotarev, A.V. Kovalev, Yu.E. Puchkova
Military Medical Academy named after S.M. Kirov, Ministry of Defense of the Russia;
6 Akademika Lebedeva St., Saint-Petersburg, 194044 Russia

Despite continuous attempts to improve therapy, the outcomes of acute myeloid leukemia remain almost unchanged over last decades. Drugs made with a more complete understanding of the biology of acute myeloid leukemia do not equal the hopes for better prognosis. The best results are achieved only with high-dose chemotherapy, which is only possible for a limited number of patients. High phenotypic and genotypic heterogeneity of acute myeloid leukemia defines the relevance to develop personalized approaches to therapy, including those based on determination of individual drug sensitivity of blast cells.

This article presents the results of developing an *ex-vivo* model of acute myeloid leukemia, as well as testing of two *in vitro* sensitivity assessment methods: evaluation of the genotoxicity of drugs in the micronucleus test and vitality and sensitivity to chemotherapy in sorted blast cells. Prospects of individualized therapy of acute myeloid leukemia were determined based on introduction into clinical practice and continuing the research.

Key words: acute myeloid leukemia, secondary acute myeloid leukemia, *ex vivo* model, drug sensitivity testing, genotoxicity, micronucleus test, fluorescence activated cell sorting, individualization of drug therapy

For citation: Polyakov A.S., Noskov Ya.A., Nikitin Yu.V. et al. *Ex vivo*-model design and evaluation of the sensitivity of blast cells to chemotherapy as a way to personalize the treatment of acute myeloid leukemia. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2019;14(2):59–69.

Введение

Несмотря на непрекращающиеся попытки совершенствования подходов и методов специфической и сопроводительной терапии, острые миелоидные лейкозы (ОМЛ) являются одной из самых серьезных проблем онкогематологии. Долгосрочные результаты терапии ОМЛ остаются практически неизменными уже более 20 лет, а среди лиц старше 60 лет, составляющих большинство заболевших (при медиане возраста 65 лет), — более 30 лет, что определяет особую актуальность интенсификации исследований, направленных хоть на какую-то положительную динамику в решении этой проблемы [1].

Медиана заболеваемости ОМЛ продолжает увеличиваться, несмотря на успехи в других областях профилактической и практической медицины, увеличение продолжительности жизни. Среди возрастных пациентов 5-летняя выживаемость не превышает 10–12 % [1, 2]. Повышением результативности гематологической и онкологической помощи считается увеличение числа пациентов с особой группой ОМЛ — вторичными ОМЛ (вОМЛ), принципиальными отличиями которых является патогенетическая связь с другими новообразованиями, а также с предшествующей химио- или лучевой противоопухолевой терапией. В настоящее время вклад вОМЛ в общее число случаев ОМЛ оценивается в пределах 25–35 % [2, 3], однако, по-видимому, он будет расти с увеличением выживаемости пациентов [4].

Выявление вОМЛ по сравнению с первичными ОМЛ уже при установке диагноза позволяет определить принципиально иной прогноз, выражающийся в существенно более низких показателях частоты ремиссий, длительности безрецидивной и общей выживаемости (ОВ) [2, 5, 6]. Наличие вОМЛ является фактором прогноза ранней смерти [7, 8]. Это определяется характером возникновения заболевания, связанного с прогрессированием или с трансформацией «хронического» миелопролиферативного новообразования, истощением гемопоэтических резервов и генотоксичностью предшествующей химио- или лучевой терапии по поводу любых других опухолей [2]. Помимо этого, высокий средний возраст пациентов с вОМЛ, снижение активности, фоновая коморбидность и токсичность ранее проведенного лечения значительно ограничивают возможности выбора специфической терапии.

Для пациентов с вОМЛ также характерна более высокая частота неблагоприятных цитогенетических и молекулярных aberrаций (моносомии 5, 7, делеции 5q, 7q, мутации 11q23, inv(3), t(3;3) и др.), самостоятельно определяющих худший прогноз и резистентность к терапии [5, 9–11]. В таких случаях практически нивелируется прогностическое значение возраста, других хромосомных аномалий и многих других факторов [2].

Все вышеперечисленное определяет осознание необходимости создания новых индивидуализирован-

ных подходов к терапии ОМЛ, особенно вОМЛ, выбор тактики с учетом генотипической, фенотипической и прогностической разнородности опухолевых клонов в пределах одного заболевания.

Современные подходы к терапии острых миелоидных лейкозов

Несмотря на значительные патогенетические и прогностические различия, подходы к индукционной терапии ОМЛ и вОМЛ остаются практически одинаковыми и неизменными на протяжении нескольких десятилетий. Частота достижения полных ремиссий после стандартных схем терапии на основе цитозина-арабинозида и даунорубина («7 + 3») при вОМЛ находится в пределах 30–60 %, а длительность ОВ не превышает 9 мес [2, 12–14]. При этом применение монотерапии цитарабином (малые дозы цитарабина) и других схем со сниженной токсичностью из-за возрастных и коморбидных особенностей пациентов приводит к еще менее обнадеживающим результатам [7, 12]. В связи с неблагоприятным по факту выявления вОМЛ прогнозом практически всем пациентам показана аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. Однако даже для той небольшой когорты пациентов, рассматриваемой в качестве кандидатов на аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток после учета возраста, коморбидности, других факторов риска, оценки результатов и осложнений индукционной терапии, предполагается гораздо более высокая ассоциированная с трансплантацией летальность и худший прогноз [15, 16].

Неудовлетворительные результаты лечения ОМЛ обуславливают актуальность внедрения новых подходов к терапии. Наиболее широкое распространение в качестве альтернативных получили схемы на основе гипометилирующих агентов — азацитидина и децитабина. В исследовании на когорте пациентов с ОМЛ и миелодиспластическим синдромом для сравнения эффективности гипометилирующих агентов и цитарабинсодержащих схем были показаны более высокая частота достижения полных ремиссий (41 % против 35 %) и увеличение времени до возникновения рецидива (9 мес против 5 мес) для альтернативных препаратов [17]. Однако при выделении в отдельную группу пациентов с вОМЛ различий в эффективности гипометилирующих агентов и цитарабинсодержащих схем уже не выявляется, хотя и сохраняется некоторое преимущество в длительности ОВ (6,9 мес против 5,4 мес) [18]. Подобные результаты в отношении вОМЛ были достигнуты и при сравнении азацитидина с полихимиотерапией по схеме МЕС (митоксантрон, эпозид, цитарабин): показана даже меньшая частота ответов на гипометилирующую терапию при сохранении преимущества в показателях выживаемости [19]. Несмотря на наличие некоторых преимуществ, в отечественных гематологических центрах

применение гипометилирующих агентов в целом не влияет на общие результаты лечения ОМЛ [1]. Относительно более высокая стоимость препаратов и связанные с этим организационные сложности не только существенно ограничивают охват пациентов современной терапией, но иногда и являются причиной низкой воспроизводимости протоколов.

В настоящее время в нашей стране недоступен и целый ряд перспективных препаратов для терапии ОМЛ. Так, значительное преимущество в показателях ОВ было показано для комплексного липосомального агента цитарабина и даунорубина (СРХ-351) по сравнению со стандартной схемой «7 + 3» (9,56 мес против 5,95 мес), при этом безрецидивная выживаемость была почти сопоставима (2,53 мес против 1,31 мес), а частота достижения ремиссии для СРХ-351 оказалась даже ниже [20]. Одобрение в США в 2000 г. решение о применении гемтузумаба озогамидина было отозвано в 2010 г. по причине отсутствия преимуществ по сравнению со стандартными схемами терапии и токсичности в виде развития синдрома слабости синусового узла [21]. После повторного одобрения в 2017 г. на основании доказательств лучшей переносимости при снижении дозировки [22] гемтузумаба озогамидин вновь не показал преимуществ в показателях ОВ по сравнению с другими доступными методами [22, 23].

Ожидания от исследований перспективных агентов в большинстве случаев исходят из теоретического обоснования принципиально новых фармакодинамических свойств. Предполагалось, что применение амонафида – нового ингибитора топоизомеразы II – получит преимущество над антрациклинами вследствие отсутствия характерной для последних утраты Р-гликопротеина. Однако результаты клинического исследования не выявили различий при использовании комбинации амонафида и цитарабина по сравнению со схемой «7 + 3» [24]. Ингибитор PARP (белок, угнетающий репарацию ДНК) велипариб смог показать значимую активность при вОМЛ лишь в испытаниях *in vitro* [25]. Селективный ингибитор циклинзависимых киназ алвоцидид в исследовании II фазы показал большую эффективность в комбинации с цитарабином и митоксантроном в достижении полных ремиссий при вОМЛ по сравнению со схемой «7 + 3» (60 % против 35 % пациентов) [26].

Неоднозначность перспектив появления и внедрения в клиническую практику новых направлений противоопухолевого воздействия определяет сохранение актуальности исследований, направленных на модификацию уже существующих схем терапии, прежде всего основанных на цитозине-арабинозиде. Так, в исследовании EORTC-GINEMA AML-12 оценивали сочетания высоких доз цитарабина с эпопозидом и даунорубицином у 105 пациентов с вОМЛ. Было показано значительное, по сравнению со стандартными подходами, увеличение частоты полных ремиссий

(94,1 % против 59,1 % в группе пациентов в возрасте младше 45 лет и 82,8 % против 52,9 % в группе старше 45 лет), а также повышение 6-летней ОВ у молодых пациентов (76,5 % против 28,7 %) [27]. В 2 похожих исследованиях эффективности схемы FLAG (флударабин, высокие дозы цитарабина и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора) у пациентов в возрасте до 60 лет частота достижения ремиссий составила 58 и 64 % соответственно, летальность, ассоциированная с лечением, – 12 и 16 %. В 1-м исследовании ОВ превысила 12 мес (для 54 % пациентов), во 2-м исследовании составила 8 мес (для всей выборки) [28, 29]. Применение режима GCLAC (гранулоцитарный колониестимулирующий фактор – праймер с клофарабином и высокими дозами цитарабина) позволило достичь полных ремиссий у 76 % пациентов, медиана ОВ составила 24,3 мес, а летальность, ассоциированная с лечением, не превышала 2 % [30]. Возможно, более обнадеживающие результаты терапии были связаны с относительно низким средним возрастом испытуемых – 53 года. Результаты большинства исследований подтверждают правило о том, что при любых подходах к терапии увеличение среднего возраста и доли пациентов с вОМЛ всегда ассоциируется со снижением частоты ответов и сроков ОВ и безрецидивной выживаемости при росте летальности, связанной с лечением.

Недостаточная эффективность современной терапии ОМЛ и не соответствующая ожиданиям клиническая эффективность перспективных препаратов могут объясняться, прежде всего, алгоритмическими принципами при создании и совершенствовании подходов к терапии, разрабатываемых без учета индивидуальных особенностей каждого случая заболевания – уникального патологического процесса в рамках весьма гетерогенной группы ОМЛ, существенно более разнообразной, чем формы, представленные в современной классификации. Поэтому отсутствие в ближайшей перспективе внедрения новых, активных в отношении большинства вариантов ОМЛ терапевтических агентов, оправдывает попытки дальнейшего совершенствования помощи на основе разработки индивидуализированных подходов к лечению.

Индивидуализация противоопухолевой терапии в онкогематологии

Концепция пациент-специфичного выбора терапии на основе изучения восприимчивости к фармакологическому воздействию известных этиопатогенетических факторов болезни не нова. Наибольшие успехи в этом отношении достигнуты в области антимикробной терапии в виде применения в клинике результатов микробиологических исследований. В то же время лишь недавно были сделаны первые шаги к использованию таких подходов и при выборе противоопухолевых препаратов [31–36]. До настоящего времени применение методов оценки воздействия

на опухолевые клетки различных препаратов было ограничено доклиническими этапами испытаний разрабатываемых фармакологических субстанций. В качестве объекта в таких исследованиях выступают или модели на животных, или воспроизводимые клеточные линии различных новообразований.

Несмотря на то что реализация идеи скрининга чувствительности к цитостатикам конкретного опухолевого субстрата кажется вполне возможной, ее использованию в практической онкологии препятствуют почти непреодолимые трудности: неоднородность строения и клеточная гетерогенность новообразований, выделение и лабораторное воспроизведение ведущего пролиферирующего клона, а также выполнение дополнительной биопсии в необходимый для исследования момент. Кроме этого, оценка культуральной модели опухоли вне организма не учитывает таких условий, как микроокружение, васкуляризация, барьерные свойства, нарушение межклеточных контактов, иммунный ответ, взаимодействие препаратов [37].

В то же время опухоли системы крови представляют собой гораздо более перспективный в этом отношении предмет для изучения. Большинство онкогематологических заболеваний характеризуется однородностью опухолевого клона, его относительно равномерным распределением в костном мозге или периферической крови. Даже при лимфомах злокачественные инфильтраты в различных участках лимфоидной и других тканях фенотипически и генотипически однородны.

Пригодность для культурального изучения клеток, полученных из аспиратов костного мозга или периферической крови, подтверждена многими исследователями [38, 39], а первые шаги по разработке методов оценки химиочувствительности лейкозных клеток *in vitro* и определению их клинического и прогностического значения были сделаны еще в начале 1990-х годов [40, 41]. И только в последние несколько лет стали появляться работы, посвященные результатам реального применения подобных лабораторных тестов при выборе терапии, в том числе при ОМЛ [42–47].

Разработка *ex vivo*-модели острого миелоидного лейкоза

В настоящее время на кафедре факультетской терапии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова совместно с научно-исследовательским центром академии и кафедрой клинической биохимии и лабораторной диагностики академии проводится работа по разработке методов индивидуализации противоопухолевой терапии при ОМЛ, основанной на исследованиях химиочувствительности бластных клеток.

Прежде всего была оценена возможность создания воспроизводимой *ex vivo*-модели ОМЛ путем выделения и культивирования линии бластных клеток, полученных из периферической крови или костного мозга

у пациентов с вОМЛ и первичным ОМЛ. В период с декабря 2018 г. по февраль 2019 г. были исследованы материалы от 2 пациентов.

Пациент 1, мужчина 70 лет, у которого в возрасте 67 лет впервые установлен диагноз миелопролиферативного новообразования: атипичный хронический миелоидный лейкоз BCR-ABL1, пересмотрен в первичный миелофиброз промежуточного-2 риска по шкалам IPSS, DIPSS, DIPSS+, высокого риска по MIPSS, MIPSS+, GIPSS (тройной негативный статус по драйверным мутациям, ASXL1+). В хронической фазе миелопролиферативного новообразования гематологический ответ (длится 18 мес) достигнут на фоне комбинированной терапии руксолитинибом и цепэгинтерфероном альфа-2b. Бластная трансформация – через 26 мес после установки диагноза: вОМЛ (M1 по FAB-классификации); фенотип CD7+CD9+CD11b+CD33+CD34+CD36+CD38+CD56+CD117+HLA-DR+; мутация 45,XY,-7,inv(3)(q23q26); бластоз в крови 65 % (уровень лейкоцитов $32,4 \times 10^9$ /л), в миелопунктате – 74,4 % (клеточность $39,6 \times 10^9$ /л). После проведения терапии децитабином (1 курс), цитарабином (малые дозы, 2 курса), азациитидином/цитарабином/идарубицином (2 курса) ответ не достигнут.

Пациент 2, мужчина 19 лет, у которого впервые установлен диагноз: острый промиелоцитарный лейкоз (M3 по FAB-классификации); t(15;17)(q22;q21); бластоз в крови 48 % (уровень лейкоцитов $35,7 \times 10^9$ /л), в миелопунктате – 54,4 % (клеточность $228,3 \times 10^9$ /л). Материалы получены до начала индукционной терапии.

Дополнительный забор крови и костного мозга для исследования у пациентов не проводили, так как использовались пробы, полученные в диагностических целях в рамках клинической практики. У пациентов получено добровольное информированное согласие на биомедицинское исследование.

Пробы крови и миелопунктата центрифугировали в стандартных вакутейнерах на 6 мл с гепарином. Лейкоцитарную пленку и часть плазмы добавляли в стерильные пробирки на 15 мл. Полученная в результате полная питательная среда (ППС) для культивирования содержала 80 % RPMI 1640, 10 % эмбриональной телячьей сыворотки, 10 % оригинальной сыворотки больного, 10 мкл фитогемагглютинина (ФГА) и 100 ЕД/мл пенициллина. Суспензионные клеточные культуры инкубировали в термостате (37 °С, в воздушной среде с 5 % CO₂).

В результате проведенной работы была показана возможность создания *ex vivo*-моделей ОМЛ, пригодных для определения чувствительности бластных клеток к противоопухолевым препаратам (см. далее). Продемонстрировано, что в качестве источника бластных клеток для создания модели ОМЛ *ex vivo* пригодны как миелопунктат, так и образцы периферической крови (при наличии бластоза).

После 3-кратной последовательной смены ППС (на 1/3) из одного из образцов крови больного с полирезистентной формой вОМЛ (пациент 1) была получена морфологически однородная стабильная линия бластных клеток, представляющая перспективный научный интерес. Эта клеточная линия была криоконсервирована для последующего изучения. Полученный материал планируется использовать (в качестве универсальной модели полирезистентного ОМЛ) для дальнейшей отработки и совершенствования различных методов культивирования бластных клеток и определения химиочувствительности к противоопухолевым препаратам. Например, планируется оценка возможности усовершенствования модели *ex vivo* совместным культивированием бластов и мезенхимальных стволовых клеток. На данном этапе проводится апробация методов культивирования мезенхимальных стволовых клеток.

Разработка и апробация методов определения химиочувствительности бластных клеток в модели *ex vivo*

Недоступность сложных и дорогостоящих методов тестирования перспективных фармакологических субстанций, применяемых при их разработке и доклинических фармакологических испытаниях, а также разрабатываемых и уже апробируемых в зарубежных центрах систем комплексного автоматического фармакологического анализа, таких как PharmaFlow platform [47], предопределили необходимость поиска альтернативных подходов в планировании и организации лабораторного обеспечения работы по внедрению персонифицированной терапии.

Исходя из имеющихся возможностей, нами были отобраны и адаптированы к локальным материально-техническим условиям 2 методики определения

химиочувствительности бластных клеток при ОМЛ в моделях *ex vivo*. Приводим их краткое описание.

Исследование химиочувствительности бластных клеток методом оценки генотоксичности противоопухолевых препаратов в микроядерном тесте (метод ХЧ-МЯТ)

Материал от больных (периферическая кровь от пациентов 1 и 2) культивировали с 5 мл ППС. Через 24 ч в пробы эксперимента добавляли разведенные в ППС в различных концентрациях противоопухолевые препараты (цитарабин, даунорубин, идарубин, митоксантрон, децитабин, интерферон альфа-2а, даунорубин в комбинации с интерфероном альфа-2а) или чистую ППС в качестве контроля. Далее пробы культивировали в течение 48 ч, после чего оценивали генотоксичность препаратов *in vitro* в микроядерном тесте (МЯТ): в культуры добавляли по 6 мкл/мл цитохалазина, через 24 ч клетки фиксировали, раскапывали по предметным стеклам и окрашивали по Романовскому–Гимзе. В каждом препарате подсчитывали по 100 бластных клеток с блоком цитокинеза. Оценку генотоксичности производили по определению соотношения количества клеток с микроядрами к количеству «чистых» делящихся клеток, а также по общему количеству микроядер на 100 клеток.

При оценке результатов кратность различий в количестве клеток с микроядрами в различных пробах и контроле составляла от 1,7 до 14,4 в зависимости от выбранного препарата или их сочетаний, что полностью подтвердило возможность применения МЯТ для оценки генотоксичности терапии в условиях *in vitro* (рис. 1).

С наибольшими сложностями нам пришлось столкнуться при выборе оптимальных концентраций

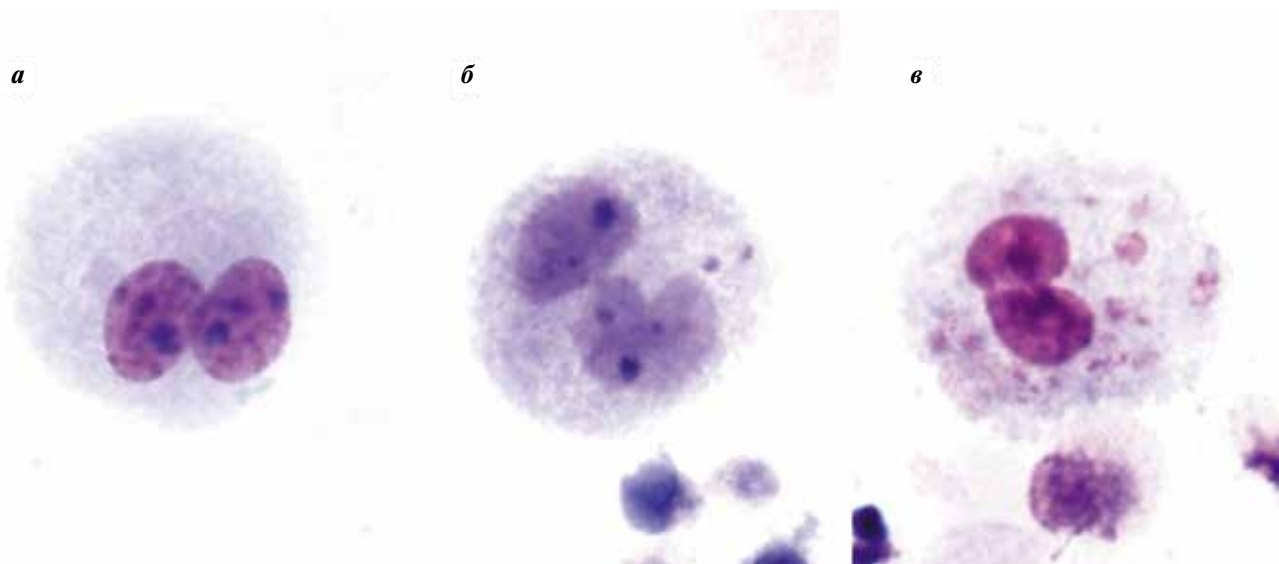


Рис. 1. Двухядерные клетки в микроядерном тесте: а – без микроядер (контроль); б – с двумя микроядрами; в – с множественными микроядрами
 Fig. 1. Binuclear cells in micronucleus test: а – without micronuclei (control); б – with two micronuclei; в – with multiple micronuclei

добавляемых в клеточную культуру химиотерапевтических агентов и времени экспозиции. Существенные различия в фармакодинамических свойствах, степени и скорости биотрансформации каждого из изучаемых препаратов в подобных исследованиях принимаются как достаточные основания к эмпирическому подбору таких величин, при которых удается достичь в среднем 50 % гибели опухолевых клеток (условно LD50). В качестве предполагаемых медианы и диапазона разведений химиопрепаратов в питательной среде нами были избраны данные о средней равновесной концентрации и другие фармакодинамические параметры (при наличии достоверной информации).

При выполнении МЯТ для каждого препарата было использовано от 1 до 3 разведений, максимально для децитабина (290, 580 и 1160 нг/мл) и для даунорубина (1700, 3400 и 6800 нг/мл), минимально для интерферона альфа-2а (только 3600 МЕ/мл). На данном этапе эксперимента нами были отобраны только парентерально применяемые при ОМЛ препараты с водорастворимой фармакологической основой: цитарабин, даунорубин, идарубин, митоксантрон, интерферон альфа-2а, децитабин. В настоящее время продолжается работа по доработке методов разведения и режимов экспонирования препаратов в целях совершенствования и стандартизации методики.

Необходимо отметить, что с учетом результатов добавления в среду интерферона альфа-2а как в монорежиме, так и в сочетании с даунорубином удалось показать значимое влияние данного препарата на количество клеток с микроядрами, что является одним из возможных подтверждений (по крайней мере, на нашей модели ОМЛ *ex vivo*) до сих пор обсуждаемых механизмов прямого цитотоксического действия интерферона альфа-2а и требует дальнейшего изучения.

Исследование химиочувствительности отсортированных клеток CD34+ методом оценки количества жизнеспособных клеток по маркировке свободной ДНК (метод ХЧ-Sort)

Сортировке бластных клеток предшествовало диагностическое иммунофенотипическое исследование периферической крови пациента с вОМЛ (пациент 1) на проточном цитометре Cytomics FC500 (Beckman Coulter, США) с использованием различных комбинаций прямых моноклональных антител и соответствующих контролей (Beckman Coulter, США). Обнаружена область бластных клеток с aberrантным фенотипом: CD7+CD9+CD11b+CD33+CD34+CD36+CD38+CD56+CD117+HLA-DR+. В связи с преобладанием бластной популяции в образце, а также отсутствием в других областях клеток, положительных по CD34+ (антитела CD34 PE; Beckman Coulter, США), этот маркер был отобран для протокола дальнейшей сортировки.

Для сортировки бластных клеток из окрашенных антителами CD34 PE (Beckman Coulter, США) 7 AAD Viability Dye (Beckman Coulter, США) образцов периферической крови использовали клеточный сортер MoFlow Astrios EQ (Beckman Coulter, США) в конфигурации с 3 лазерами 200 мВт 488 нм, 55 мВт 405 нм, 100 мВт 645 нм и стандартным набором фильтров, оптимизированных для каждого лазера. Настройку прибора и последующую сортировку осуществляли с насадкой сопла Jet-in-air 70 мкм, давлениями 59,7–60 psi для потока обжимающей жидкости IsoFlow (Beckman Coulter, США) и 60,9–61,1 psi для потока образца соответственно. Скорость анализа образцов была до 10 000 событий в секунду (рис. 2).

Настройку протокола сортировки осуществляли с учетом полученных данных ранее выполненного диагностического иммунофенотипирования, в результате из 300 мкл периферической крови отсортировали по 520 650 жизнеспособных клеток CD34+ в 2

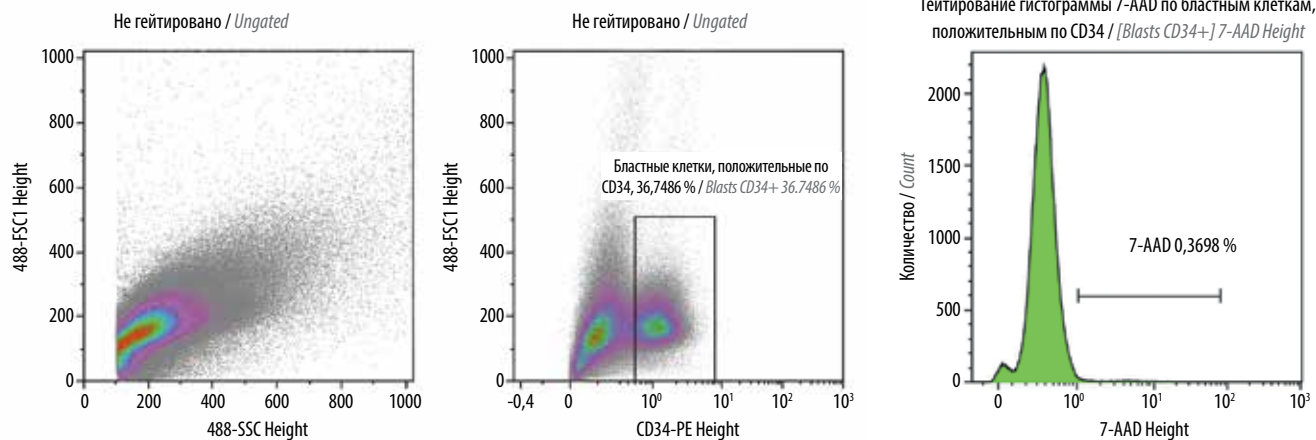


Рис. 2. Выделение клеток CD34+ при сортировке (Fluorescence activated cell sorting)
Fig. 2. Results of sorting CD34+ cells (Fluorescence activated cell sorting)

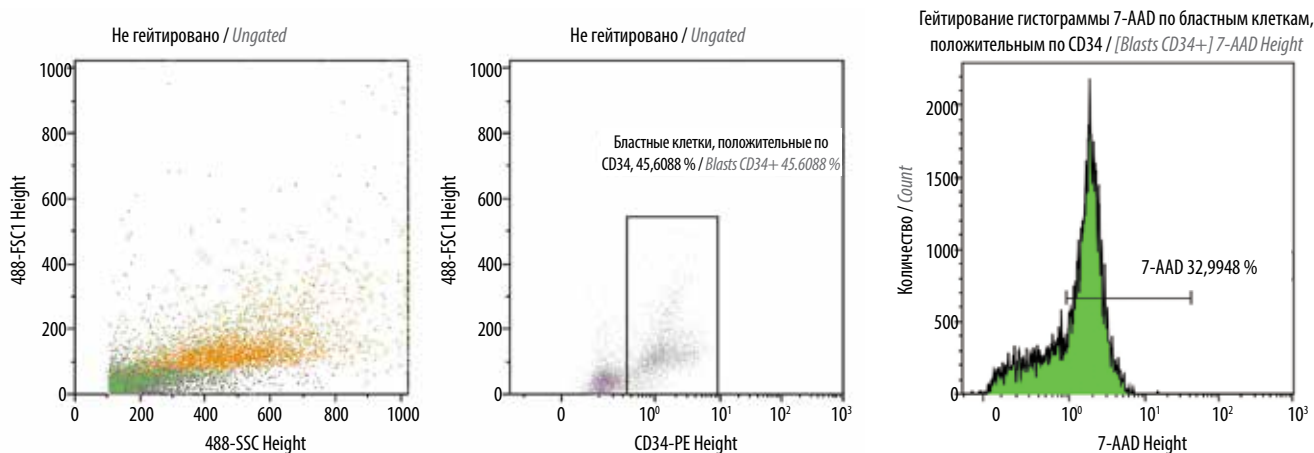


Рис. 3. Оценка жизнеспособности клеток после культивирования без химиопрепарата (контроль)
 Fig. 3. Evaluation of cell viability after cultivation without chemotherapeutic agent (control)

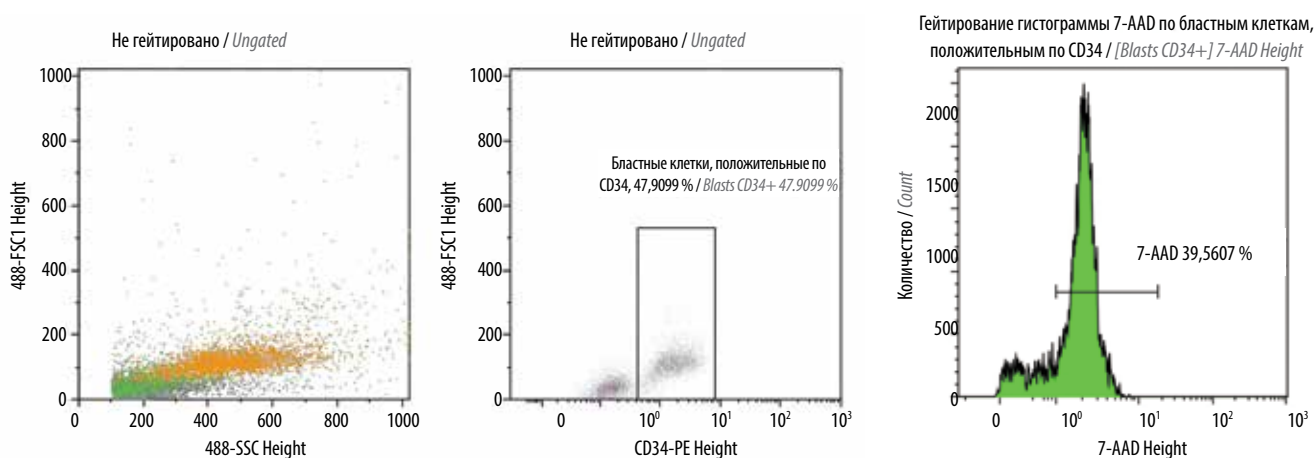


Рис. 4. Оценка жизнеспособности клеток после культивирования с химиопрепаратом
 Fig. 4. Evaluation of cell viability after cultivation with chemotherapeutic agent

пробирки, которые культивировали (37 °С, 5 % CO₂) в течение 4 сут в 5 мл ППС, содержащей 80 % RPMI 1640, 10 % эмбриональной телячьей сыворотки, 10 % оригинальной сыворотки больного, 10 мкл ФГА и 100 ЕД/мл пенициллина. В одну из проб после первых суток добавили децитабин в концентрации 1160 нг на 1 мл среды. Для оценки его генотоксичности на том же сортере через 5 сут культивирования определили количество клеток, сохранивших жизнеспособность, путем оценки результатов маркировки свободной ДНК (рис. 3, 4).

В результате эксперимента была апробирована методика культивирования отсортированных CD34+ жизнеспособных бластных клеток ОМЛ из периферической крови. В связи с тем что культивирование осуществляли без специальных смесей цитокинов для роста клеток CD34+, а также с предполагаемым повреждением при сортировке, погибших клеток в обоих пробах оказалось значительно больше, чем ожидалось. Тем не менее в пробе с добавлением децитабина живых бластных клеток оказалось почти в 2 раза меньше, чем в контрольной пробе (9330

и 17633 клеток соответственно), что подтвердило потенциальную информативность метода.

Выбор набора антител, необходимых для настройки протокола сортировки в каждом конкретном случае, должен основываться на результатах предшествующего диагностического иммунофенотипического исследования.

Перспективы применения методов оценки химиочувствительности

Как в методе ХЧ-МЯТ, так и в методе ХЧ-Sort в качестве объекта исследования могут выступать не только непосредственно полученные от больного нативные биологические материалы (кровь, миелопунктат), но и полученные в результате культивирования *ex vivo*-модели ОМЛ, в том числе криоконсервированные стабильные линии бластных клеток (например, для оценки динамики формирования химиорезистентности).

С позиций оценки точности метода среди апробированных нами методик наибольшей прецизионностью обладает исследование однородных («чистых»)

клеточных суспензий, полученных при проточно-цитометрической сортировке бластных клеток с абберантным фенотипом методом ХЧ-Sort. Однако выявленная на практике проблема снижения жизнеспособности отсортированных клеток значительно ограничивает возможности их дальнейшей культивации и изучения без применения сложных многоцитокиновых сред и создания особых физических условий. Кроме этого, немаловажными являются высокая стоимость и недостаточная распространенность специального оборудования в отечественных центрах, что дополнительно ограничивает возможности распространения такого опыта.

Поэтому применение клеточного сортера может рассматриваться как метод контроля качества культуральных способов выделения и пассажа бластных клеток, а также как один из контрольных методов оценки химиочувствительности (ХЧ-Sort). Оказалось, что культуральный метод выделения обладает достаточной специфичностью, а выделенные бластные клетки ОМЛ остаются достаточно жизнеспособными и для определения генотоксичности лекарственных препаратов, и для создания экспериментальных клеточных линий.

Обсуждение

В настоящее время успехи в терапии ОМЛ базируются на применении схем высокодозной химиотерапии и аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Данные подходы вполне реализуемы у молодых пациентов, в то время как пациенты старших возрастных групп из-за ряда ограничений в большинстве случаев лишены возможности получения эффективной помощи. Увеличивающиеся с возрастом частота вОМЛ, первичная и вторичная резистентность к терапии дополнительно определяют низкую частоту ответов, рецидивирование и необходимость повторного эмпирического подбора эффективной терапии.

По нашему мнению, недостаточно оптимистичные результаты лечения ОМЛ, особенно вОМЛ, связаны и с тем, что общепринятые типовые протоколы лечения, даже составленные с учетом фенотипических и генотипических различий внутри группы ОМЛ, не учитывают предлагаемой концепции о необходимости разработки уникальной схемы лечения для каждого пациента. Разработка персонализированных подходов на основе изучения химиочувствительности опухолевых клеток может помочь избежать бесконечного эмпирического перебора режимов терапии, снизить ее токсичность и в перспективе привести

к улучшению результатов лечения даже в сравнении с новейшими, но протоколизованными подходами к лечению [43–47].

В настоящее время мы работаем над оценкой возможностей модификации существующих протоколов лечения, основанных на создании индивидуальных лабораторных моделей ОМЛ *ex vivo* и применении наиболее эффективных и, главное, относительно доступных методов оценки химиочувствительности бластных клеток.

Предварительные результаты нашего исследования показывают возможность выделения и культивирования бластных клеток ОМЛ и достаточную, прежде всего с позиций относительной доступности и воспроизводимости, информативность избранных и апробированных методик оценки генотоксичности противоопухолевых препаратов. По предварительным данным, адаптированные к нашим локальным возможностям методы определения генотоксичности как с применением МЯТ, так и подсчет «живых» клеток при проточно-цитометрическом анализе, обладают сопоставимыми чувствительностью и специфичностью и могут рассматриваться в качестве перспективных методов определения химиочувствительности бластных клеток при ОМЛ.

Применение результатов определения химиочувствительности выделенных от конкретного больного бластных клеток в модели *ex vivo* является одним из перспективных направлений разработки персонализированных схем терапии. И даже несмотря на то что пока непосредственный перенос результатов изучения опухолевых клеток вне организма в клиническую практику имеет определенные сложности, полученные с помощью таких методов сведения уже сейчас могут как минимум помочь избежать назначения заведомо неэффективных для конкретного пациента препаратов. Это может способствовать снижению общей токсичности терапии и предупреждению развития множественной лекарственной резистентности.

Заключение

В настоящее время мы оцениваем возможность применения новых принципов индивидуализации противоопухолевой терапии и при разработке схем терапии пациентов с резистентными формами ОМЛ. На данном этапе мы демонстрируем возможность лабораторного изучения чувствительности полученных от конкретного больного бластных клеток к противоопухолевым препаратам. Данные литературы и уже полученные собственные наработки позволяют надеяться на перспективность разрабатываемых подходов.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Клинические рекомендации по диагностике и лечению острых миелоидных лейкозов взрослых. Национальное гематологическое общество. Под ред. В.Г. Савченко. 2018. 65 с. [Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of adult acute myeloid leukemia. National Hematological Society. Ed. V.G. Savchenko. 2018. 65 p. (In Russ.)].
2. Granfeldt Östgård L.S., Medeiros B.C., Sengeløv H. et al. Epidemiology and clinical significance of secondary and therapy-related acute myeloid leukemia: a National Population-Based Cohort Study. *J Clin Oncol* 2015;33(31):3641–9. DOI: 10.1200/JCO.2014.60.0890.
3. Hulegårdh E., Nilsson C., Lazarevic V. et al. Characterization and prognostic features of secondary acute myeloid leukemia in a population-based setting: a report from the Swedish acute leukemia registry. *Am J Hematol* 2015;90(3):208–14. DOI: 10.1002/ajh.23908.
4. Valentini C.G., Fianchi L., Voso M.T. et al. Incidence of acute myeloid leukemia after breast cancer. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2011;3(1):e2011069. DOI: 10.4084/MJHID.2011.069.
5. Kayser S., Döhner K., Krauter J. et al. The impact of therapy-related acute myeloid leukemia (AML) on outcome in 2853 adult patients with newly diagnosed AML. *Blood* 2011;117(7):2137–45. DOI: 10.1182/blood-2010-08-301713.
6. Borthakur G., Lin E., Jain N. et al. Survival is poorer in patients with secondary core-binding factor acute myelogenous leukemia compared with *de novo* core-binding factor leukemia. *Cancer* 2009;115(14):3217–21. DOI: 10.1002/cncr.24367.
7. Krug U., Röllig C., Koschmieder A. et al. Complete remission and early death after intensive chemotherapy in patients aged 60 years or older with acute myeloid leukaemia: a web-based application for prediction of outcomes. *Lancet* 2010;376(9757):2000–8. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)62105-8.
8. Walter R.B., Othus M., Borthakur G. et al. Prediction of early death after induction therapy for newly diagnosed acute myeloid leukemia with pretreatment risk scores: a novel paradigm for treatment assignment. *J Clin Oncol* 2011;29(33):4417–24. DOI: 10.1200/JCO.2011.35.7525.
9. Smith S.M., Le Beau M.M., Huo D. et al. Clinical-cytogenetic associations in 306 patients with therapy-related myelodysplasia and myeloid leukemia: the University of Chicago series. *Blood* 2003;102(1):43–52. DOI: 10.1182/blood-2002-11-3343.
10. Larson R.A. Etiology and management of therapy-related myeloid leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2007;(1):453–9. DOI: 10.1182/asheducation-2007.1.453.
11. Christiansen D.H., Andersen M.K., Pedersen-Bjergaard J. Mutations with loss of heterozygosity of p53 are common in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia after exposure to alkylating agents and significantly associated with deletion or loss of 5q, a complex karyotype, and a poor prognosis. *J Clin Oncol* 2001;19(5):1405–13. DOI: 10.1200/JCO.2001.19.5.1405.
12. Löwenberg B., Ossenkoppele G.J., van Putten W. et al. High-dose daunorubicin in older patients with acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2009;361(13):1235–48. DOI: 10.1056/NEJMoa0901409.
13. Boddü P., Kantarjian H.M., Garcia-Manero G. et al. Treated secondary acute myeloid leukemia: a distinct high-risk subset of AML with adverse prognosis. *Blood Adv* 2017;1(17):1312–23. DOI: 10.1182/bloodadvances.2017008227.
14. Lancet J.E., Uy G.L., Cortes J.E. et al. Final results of a phase III randomized trial of CPX-351 versus 7+3 in older patients with newly diagnosed high risk (secondary) AML. *J Clin Oncol* 2016;34(15):7000. DOI: 10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.7000.
15. Michelis F.V., Atenafu E.G., Gupta V. et al. Comparable outcomes post allogeneic hematopoietic cell transplant for patients with *de novo* or secondary acute myeloid leukemia in first remission. *Bone Marrow Transplant* 2015;50(7):907–13. DOI: 10.1038/bmt.2015.59.
16. Tang F.F., Huang X.J., Zhang X.H. et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult patients with treatment-related acute myeloid leukemia during first remission: comparable to *de novo* acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2016;47:8–15. DOI: 10.1016/j.leukres.2016.05.005.
17. Ravandi F., Issa J.P., Garcia-Manero G. et al. Superior outcome with hypomethylating therapy in patients with acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome and chromosome 5 and 7 abnormalities. *Cancer* 2009;115(24):5746–51. DOI: 10.1002/cncr.24661.
18. Boddü P.C., Kantarjian H.M., Ravandi F. et al. Characteristics and outcomes of older patients with secondary acute myeloid leukemia according to treatment approach. *Cancer* 2017;123(16):3050–60. DOI: 10.1002/cncr.30704.
19. Maurillo L., Buccisano F., Spagnoli A. et al. Comparative analysis of azacitidine and intensive chemotherapy as front-line treatment of elderly patients with acute myeloid leukemia. *Ann Hematol* 2018;97:1767–74. DOI: 10.1007/s00277-018-3374-x.
20. Lancet J.E., Uy G.L., Cortes J.E. et al. CPX-351 (cytarabine and daunorubicin) liposome for injection versus conventional cytarabine plus daunorubicin in older patients with newly diagnosed secondary acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2018;36(26):2684–92. DOI: 10.1200/JCO.2017.77.6112.
21. Petersdorf S.H., Kopecky K.J., Slovak M. et al. A phase 3 study of gemtuzumab ozogamicin during induction and postconsolidation therapy in younger patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2013;121(24):4854–60. DOI: 10.1182/blood-2013-01-466706.
22. Castaigne S., Pautas C., Terré C. et al. Final analysis of the ALFA 0701 study. *Blood* 2014;124(21):376.
23. Burnett A.K., Russell N.H., Hills R.K. et al. Addition of Gemtuzumab Ozogamicin to induction chemotherapy improves survival in older patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2012;30(32):3924–31. DOI: 10.1200/JCO.2012.42.2964.
24. Stone R.M., Mazzola E., Neuberg D. et al. Phase III open-label randomized study of Cytarabine in combination with Amonafide L-malate or Daunorubicin as induction therapy for patients with secondary acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2015;33(11):1252–7. DOI: 10.1200/JCO.2014.57.0952.
25. Pratz K.W., Rudek M.A., Gojo I. et al. A phase I study of Topotecan, carboplatin and the PARP inhibitor Veliparib in acute Leukemias, aggressive myeloproliferative neoplasms, and chronic Myelomonocytic leukemia. *Clin Cancer Res* 2017;23(4):899–907. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1274.
26. Zeidner J.F., Foster M.C., Blackford A.L. et al. Randomized multicenter phase II study of flavopiridol (alvocidib), cytarabine, and mitoxantrone (FLAM) versus cytarabine/daunorubicin (7 + 3) in newly diagnosed acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2015;100(9):1172–9. DOI: 10.3324/Haematol.2015.125849.
27. Willemze R., Suci S., Meloni G. et al. High-dose Cytarabine in induction treatment improves the outcome of adult patients younger than age 46 years with acute myeloid leukemia: results of the EORTC-GIMEMA AML-12 trial. *J Clin Oncol* 2014;32(3):219–28. DOI: 10.1200/JCO.2013.51.8571.
28. Bashey A., Liu L., Ihasz A. et al. Non-anthracycline based remission induction therapy for newly diagnosed patients with acute myeloid leukemia aged 60 or older. *Leuk Res* 2006;30(4):503–6. DOI: 10.1016/j.leukres.2005.09.002.
29. Ferrara F., Palmieri S., Izzo T. et al. Continuous sequential infusion of fludarabine and cytarabine for elderly

- patients with acute myeloid leukaemia secondary to a previously diagnosed myelodysplastic syndrome. *Hematol Oncol* 2010;28(4):202–8. DOI: 10.1002/hon.943.
30. Becker P.S., Medeiros B.C., Stein A.S. et al. G-CSF priming, clofarabine, and high dose cytarabine (GCLAC) for upfront treatment of acute myeloid leukemia, advanced myelodysplastic syndrome or advanced myeloproliferative neoplasm. *Am J Hematol* 2015;90(4):295–300. DOI: 10.1002/ajh.23927.
 31. Jeong E., Moon S.U., Song M. et al. Transcriptome modeling and phenotypic assays for cancer precision medicine. *Arch Pharm Res* 2017;40(8):906–14. DOI: 10.1007/s12272-017-0940-z.
 32. Muraro M.G., Muenst S., Mele V. et al. *Ex-vivo* assessment of drug response on breast cancer primary tissue with preserved microenvironments. *Oncimmunology* 2017;6(7):e1331798. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1331798.
 33. Meijer T.G., Naipal K.A., Jager A. et al. *Ex vivo* tumor culture systems for functional drug testing and therapy response prediction. *Future Sci OA* 2017;3(2):FSO190. DOI: 10.4155/fsoa-2017-0003.
 34. Yadav B., Pemovska T., Sz wajda A. et al. Quantitative scoring of differential drug sensitivity for individually optimized anticancer therapies. *Sci Rep* 2014;4:5193. DOI: 10.1038/srep05193.
 35. Brigulová K., Cervinka M., Tošner J. et al. Chemoresistance testing of human ovarian cancer cells and its *in vitro* model. *Toxicol In Vitro* 2010;24(8):2108–15. DOI: 10.1016/j.tiv.2010.08.010.
 36. Ehemann V., Kern M.A., Breinig M. et al. Establishment, characterization and drug sensitivity testing in primary cultures of human thymoma and thymic carcinoma. *Int J Cancer* 2008;122(12):2719–25. DOI: 10.1002/ijc.23335.
 37. Ferris J.S., Rice L.W. The role of *in vitro* directed chemotherapy in epithelial ovarian cancer. *Reviews Obstetrics Gynecology* 2010;3(2):49–54.
 38. Pemovska T., Kontro M., Yadav B. et al. Individualized systems medicine strategy to tailor treatments for patients with chemorefractory acute myeloid leukemia. *Cancer Discov* 2013;3(12):1416–29. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-13-0350.
 39. Bosanquet A.G., Bell P.B. *Ex vivo* therapeutic index by drug sensitivity assay using fresh human normal and tumor cells. *J Exp Ther Oncol* 2004;4(2):145–54.
 40. Kaspers G.J., Veerman A.J., Pieters R. et al. *In vitro* cellular drug resistance and prognosis in newly diagnosed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1997;90(7):2723–9.
 41. Dogan A.L., Kars A., Canpinar H. Prediction of clinical response to chemotherapy by *in vitro* chemosensitivity assay in acute leukemia. *Turk J Cancer* 2004;34(2):75–80.
 42. Kurtz S.E., Eide C.A., Kaempf A. et al. Molecularly targeted drug combinations demonstrate selective effectiveness for myeloid- and lymphoid-derived hematologic malignancies. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017;114(36):7554–63. DOI: 10.1073/pnas.1703094114.
 43. Snijder B., Vladimer G.I., Krall N. et al. Image-based *ex vivo* drug screening for patients with aggressive haematological malignancies: interim results from a single-arm, open-label, pilot study. *Lancet Haematol* 2017;4(12):595–606. DOI: 10.1016/S2352-3026(17)30208-30209.
 44. Swords R.T., Azzam D., Al-Ali H. et al. *Ex vivo* sensitivity profiling to guide clinical decision making in acute myeloid leukemia: a pilot study. *Leukemia Res* 2017;64:34–41. DOI: 10.1016/j.leukres.2017.11.008.
 45. Le Tourneau C., Kamal M., Tsimberidou A.M. et al. Treatment algorithms based on tumor molecular profiling: the essence of precision medicine trials. *J Natl Cancer Inst* 2016;108(4). DOI: 10.1093/JNCI/djv362.
 46. Megias-Vericat J., Martines-Cuadron D., Lopez J. et al. Differences in *ex vivo* chemosensitivity to anthracyclines in first line acute myeloid leukemia. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2019;11:e2019016. DOI: 10.4084/mjhid.2019.016.
 47. Hernandez P., Gorrochategui J., Primo D. et al. Drug discovery testing compounds in patient samples by automated flow cytometry. *SLAS Technology* 2017;22(3):325–37. DOI: 10.1177/2472630317700346.

Вклад авторов

А.С. Поляков, Я.А. Носков, Ю.В. Никитин: разработка концепции и дизайна исследования, клинические исследования, лабораторные исследования, сбор данных, интерпретация данных, написание текста статьи;
 В.В. Тыренко, А.Н. Богданов: разработка концепции и дизайна исследования, интерпретация данных, редактирование статьи, окончательное утверждение статьи;
 С.Н. Колюбаева, Д.К. Жоголев, А.Д. Золотарёв: разработка концепции и дизайна исследования, лабораторные исследования, написание текста статьи;
 В.Н. Семелев, С.В. Бондарчук: интерпретация данных, редактирование статьи;
 О.Р. Петрова, А.В. Ковалев, Ю.Е. Пучкова: клинические исследования, лабораторные исследования, написание текста статьи.

Authors' contributions

A.S. Polyakov, Ya.A. Noskov, Yu.V. Nikitin: study concept and design development, clinical researches, laboratory research, data collection, data interpretation, article writing;
 V.V. Tyrenko, A.N. Bogdanov: study concept and design development, data interpretation, article editing, final approval of the article;
 S.N. Kolubaeva, D.K. Zhogolev, A.D. Zolotarev: study concept and design development, laboratory research, article writing;
 V.N. Semelev, S.V. Bondarchuk: data interpretation, article editing;
 O.R. Petrova, A.V. Kovalev, Yu.E. Puchkova: clinical researches, laboratory research, article writing.

ORCID авторов/ORCID of authors

А.С. Поляков/A.S. Polyakov: <https://orcid.org/0000-0001-9238-8476>
 Я.А. Носков/Ya.A. Noskov: <https://orcid.org/0000-0003-1213-8472>
 Ю.В. Никитин/Yu.V. Nikitin: <https://orcid.org/0000-0001-7892-2783>
 В.В. Тыренко/V.V. Tyrenko: <https://orcid.org/0000-0002-0470-1109>
 С.Н. Колюбаева/S.N. Kolubaeva: <https://orcid.org/0000-0003-2441-9394>
 А.Н. Богданов/A.N. Bogdanov: <https://orcid.org/0000-0003-1964-3690>
 В.Н. Семелев/V.N. Semelev: <https://orcid.org/0000-0002-9319-462X>
 О.Р. Петрова/O.R. Petrova: <https://orcid.org/0000-0003-2441-9394>
 С.В. Бондарчук/S.V. Bondarchuk: <https://orcid.org/0000-0003-2990-8621>
 Д.К. Жоголев/D.K. Zhogolev: <https://orcid.org/0000-0002-6715-0340>
 А.Д. Золотарёв/A.D. Zolotarev: <https://orcid.org/0000-0003-4918-1976>
 А.В. Ковалев/A.V. Kovalev: <https://orcid.org/0000-0001-5884-2057>
 Ю.Е. Пучкова/Yu.E. Puchkova: <https://orcid.org/0000-0002-0790-8746>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.
Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Роль тканевого фактора в метастазировании, неоангиогенезе и гемостазе при онкологических заболеваниях

Т.А. Коваленко^{1,2}, М.А. Пантелеев¹⁻³, А.Н. Свешникова¹⁻⁴

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»;
Россия, 119991 Москва, ул. Ленинские горы, 1, стр. 2;

²ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН»; Россия, 119991 Москва, ул. Косыгина, 4;

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Саморы Машела, 1;

⁴ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет); Россия, 119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

Контакты: Татьяна Александровна Коваленко after-ten@yandex.ru

Тканевый фактор, являясь основным инициатором системы свертывания крови *in vivo*, принимает участие еще в ряде физиологических процессов, таких как ангиогенез или миграция клеток. Данные процессы не только значимы для нормальной физиологии, но и играют роль в развитии и прогрессировании онкологических заболеваний. В настоящем обзоре приведены данные о структуре тканевого фактора, его экспрессии в норме и при онкологических заболеваниях, его роли в развитии тромбоза, ассоциированного с онкологическими заболеваниями, в ангиогенезе опухолевых сосудов и метастазировании. Участие тканевого фактора в таком широком спектре физиологических процессов, важных для прогрессирования онкологического заболевания, делает его привлекательной молекулой-мишенью для терапии.

Ключевые слова: внешняя тенеза, свертывание крови, фактор VIIa, рецептор PAR2, неоплазия

Для цитирования: Коваленко Т.А., Пантелеев М.А., Свешникова А.Н. Роль тканевого фактора в метастазировании, неоангиогенезе и гемостазе при онкологических заболеваниях. Онкогематология 2019;14(2):70–85.

DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-2-70-85

The role of tissue factor in metastasising, neoangiogenesis and hemostasis in cancer

T.A. Kovalenko^{1,2}, M.A. Panteleev¹⁻³, A.N. Sveshnikova¹⁻⁴

¹Lomonosov Moscow State University; Build. 2, 1 Leninskie Gory, Moscow 119991, Russia;

²Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences;
4, Kosygina St., Moscow 119991, Russia;

³Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia;
1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia;

⁴Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Ministry of Health of Russia;
Build. 2, 8 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russia

Tissue factor, being the main initiator of the blood coagulation *in vivo*, is involved in a number of physiological processes, such as angiogenesis or cell migration. These processes are not only significant for normal physiology, but also play a role in the development and progression of oncological diseases. This review presents data on the structure of tissue factor, its expression in normal conditions and in cancer, its role in thrombosis development associated with cancer, in angiogenesis and in metastasis. The involvement of tissue factor in such a wide range of physiological processes important for the progression of cancer makes it an attractive target molecule for therapy.

Key words: extrinsic tenase, blood coagulation, factor VIIa, receptor PAR2, neoplasm

For citation: Kovalenko T.A., Panteleev M.A., Sveshnikova A.N. The role of tissue factor in metastasising, neoangiogenesis and hemostasis in cancer. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2019;14(2):70–85.

Введение

Онкологические заболевания являются одной из основных причин смертности в современном мире. Несмотря на то что для пациентов с некоторыми

типами опухолей 5-летняя выживаемость составляет более 90 % [1, 2], значительная часть случаев заболеваний бывает диагностирована на поздних стадиях, после начала метастазирования, при этом 5-летняя

выживаемость уменьшается до 5–25 % [3, 4]. Таким образом, важной задачей считается обнаружение новых маркеров развития онкологического заболевания для ранней диагностики, а также новых белков-мишеней для направленного воздействия на опухоль. Одним из подобных белков может являться тканевый фактор (TF).

Тканевый фактор, называемый тромбопластином, или CD142, – интегральный мембранный гликопротеин на внешней поверхности плазматической мембраны клеток организма. Он выполняет функции клеточного рецептора для фактора VII, сериновой протеазы, в основном присутствующей в плазме крови в форме неактивного предшественника. Однако 1 % циркулирующего фактора VII присутствует в форме активной протеазы – фактора VIIa (суффикс «а» обозначает активную форму фактора).

Тканевый фактор считается основным инициатором свертывания крови. Плазменный гемостаз (процесс желирования плазмы крови в результате полимеризации белка фибрина) критически важен для нормального формирования тромба. Его участниками являются белки плазмы крови, факторы свертывания, а основной путь инициации *in vivo* – внешний. Инициация свертывания происходит, когда после повреждения сосуда плазма крови входит в контакт с тканями организма, клетки которых несут на поверхности TF. При этом фактор VII/VIIa, присутствующий в плазме крови, связывается с TF, в результате чего формируется первый каталитически активный комплекс (VIIa/TF), также называемый внешней теназой. Этот комплекс способен активировать фактор X с образованием фактора Xa, и эта реакция первая в цепи ферментативных реакций, результатом которой является превращение фибриногена в фибрин и полимеризация фибрина.

Однако помимо инициации свертывания TF принимает участие в ряде других биологических процессов, таких как рост тромба [5, 6], миграция клеток [7], развитие кровеносных сосудов.

Тканевый фактор критически необходим для жизни и развития организма. Эмбрионы генетически модифицированных мышей, не экспрессирующие TF, обладали значительными дефектами развития сосудов желточного мешка и в 100 % случаев погибали [8–10]. У человека генетический дефицит TF несовместим с жизнью.

Тканевый фактор, являясь жизненно необходимым клеточным рецептором, играет значительную роль и во многих патофизиологических процессах. В частности, известно, что при онкологических заболеваниях TF задействован в росте, неоваскуляризации и метастазировании злокачественных опухолей [11]. Кроме этого, существует большое количество экспериментальных данных, подтверждающих, что TF играет роль в развитии тромбозов (в частности, венозной тромбоземболии (ВТ) и тромбоза глубоких вен

(ТГВ)) у пациентов с онкологическими заболеваниями [12, 13].

В настоящем обзоре приведены данные о структуре TF, его локализации в норме и при онкологических заболеваниях, освещена роль TF в нормальном гемостазе и развитии тромбозов у пациентов с онкологическими заболеваниями, а также в процессах ангиогенеза и метастазирования опухоли.

Структура тканевого фактора

Тканевый фактор имеет молекулярную массу около 47 кДа в полностью гликозилированном состоянии и может состоять из 261 или 263 аминокислот [14]. В его состав входит С-концевой цитоплазматический домен из 21 аминокислоты (остатки 243–263), трансмембранный домен из 22 аминокислот (остатки 220–242) и N-концевой внеклеточный домен (остатки 1–219) (рис. 1). Внеклеточный домен, в свою очередь, состоит из 2 иммуноглобулин-подобных доменов (N-концевого, находящегося в удаленной от мембраны части TF, и С-концевого, расположенного ближе к мембране) [15], соединенных полипептидным линкером (остатки Pro102–Asn107) и расположенных под углом приблизительно 130° [16].

Тканевый фактор кодируется геном *F3*, локализованным на 1-й хромосоме человека. Он состоит из 12,4 тыс. пар оснований и организован в 6 экзонах,

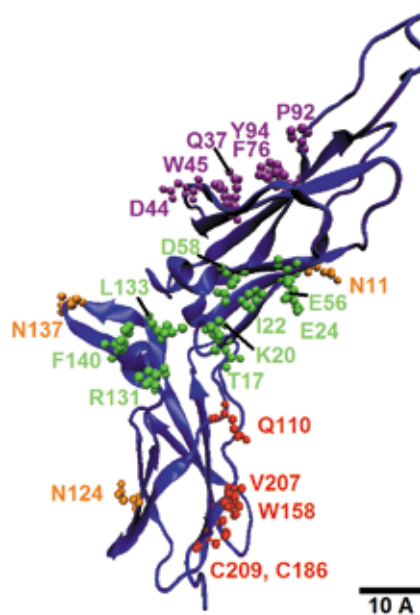


Рис. 1. Внеклеточный домен тканевого фактора. Три сайта гликозилирования отмечены оранжевым. Красным цветом показаны аминокислотные остатки, которые связывают Gla-домен фактора VIIa; зеленым – аминокислотные остатки, связывающие EGF1-домен фактора VIIa; фиолетовым – аминокислотные остатки, связывающие EGF2- и каталитические домены фактора VIIa. Структура визуализирована с использованием *pdb*-файла 1BOY (Protein Data Bank) [15]
 Fig. 1. The extracellular domain of tissue factor. Three glycosylation sites are marked in orange. Red – amino acid residues that bind the Gla-domain of factor VIIa; green – amino acid residues binding the EGF1-domain of factor VIIa; violet – amino acid residues binding EGF2- and catalytic domains of factor VIIa. Structure visualized using 1BOY *pdb*-file (Protein Data Bank) [15]

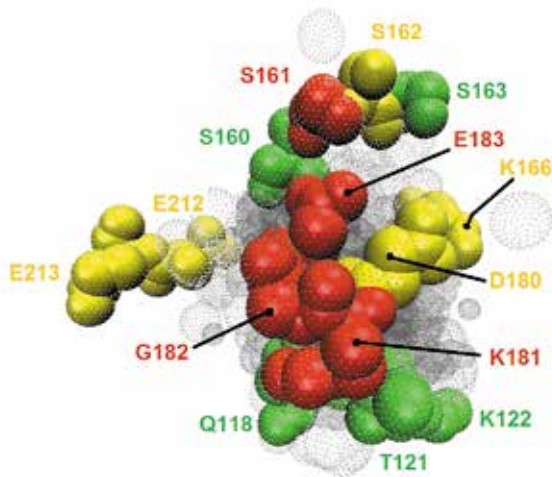


Рис. 2. Внеклеточный домен тканевого фактора, вид снизу. Цветом отмечены аминокислотные остатки в соответствии с относительным количеством времени, в течение которого они контактировали с мембраной за период молекулярной динамики: красный – для >70 % времени, желтый – для 30–70 % времени, зеленый – для <30 % времени. Структура визуализирована с использованием pdb-файла 1BOY (Protein Data Bank) [15]

Fig. 2. Extracellular domain of tissue factor, bottom view. Amino acid residues are marked by color depending on relative time of contact with membrane during the molecular dynamics: red for >70 % of the time, yellow for 30–70 % of the time, green for <30 % of the time. Structure visualized using 1BOY pdb-file (Protein Data Bank) [15]

разделенных 5 интронами. Экзон 1 кодирует сигнальный пептид, который удаляется в ходе процессинга белка. Экзон 6 кодирует трансмембранный и цитоплазматический домены [17].

Внеклеточный домен TF обладает 3 сайтами N-гликозилирования (Asn11, Asn124 и Asn137) (см. рис. 1, оранжевый), причем Asn124 и Asn137 полностью гликозилированы, а Asn11 гликозилирован на 90 % [18].

Результаты исследований с помощью молекулярной динамики показали, что аминокислотные остатки внеклеточного домена TF способны взаимодействовать с отрицательно заряженной фосфолипидной мембраной (рис. 2). Это взаимодействие способно удерживать изолированный внеклеточный домен TF (sTF, остатки 1–219) в прикрепленном к мембране состоянии [16].

В организме TF присутствует не только в изоформе трансмембранного белка, но и в растворимой изоформе – в виде TF, продукта альтернативного сплайсинга (asTF) матричной РНК (мРНК), который был обнаружен и описан в 2003 г. В этой изоформе TF отсутствует экзон 5, а экзон 4 соединяется с экзон 6. AsTF состоит из 206 аминокислот, причем первые 166 идентичны аминокислотам внеклеточного домена TF, а аминокислоты 167–206 составляют уникальный С-концевой домен [19]. Результаты более поздних исследований показали, что asTF присутствует не только в плазме крови человека, но и у мышей [20].

Связывание тканевого фактора с фактором VII/VIIa

Тканевый фактор является клеточным рецептором для факторов VII и VIIa, который присутствует в плазме крови в концентрации около 10 нМ [21], причем только 1 % фактора присутствует в активной форме – в виде фактора VIIa [22]. Фактор VII/VIIa состоит из 4 доменов: Gla-домена, который принимает участие в кальцийзависимом связывании фактора VII/VIIa с мембраной, 2 доменов, подобных эпидермальному фактору роста (домены EGF1 и EGF2) и каталитического домена [23].

Тканевый фактор с приблизительно одинаково высокой афинностью связывает факторы VII и VIIa [24, 25], причем это связывание является кальцийзависимым [26]. В результате формируется комплекс VIIa/TF, называемый внешней теназой (рис. 3).

Как показали исследования с помощью мутагенеза [27–29] и рентгеноструктурного анализа комплекса VIIa/TF [30], аминокислотные остатки TF, важные для его взаимодействия с фактором VII, формируют 3 «связывающие области»: 1) остатки в С-концевом иммуноглобулин-подобном домене внеклеточного домена TF, которые связывают Gla-домен фактора VIIa (см. рис. 1, красный); 2) остатки в N-концевом иммуноглобулин-подобном домене, связывающие EGF1-домен фактора VIIa (см. рис. 1, зеленый); 3) остатки в N-концевом иммуноглобулин-подобном домене, связывающие EGF2- и каталитический

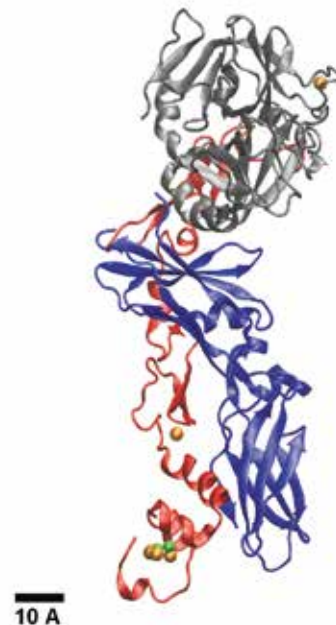


Рис. 3. Комплекс внеклеточного домена тканевого фактора и фактора VIIa. Синим цветом показан тканевый фактор, красным – легкая цепь фактора VIIa, серым – тяжелая цепь фактора VIIa, оранжевым – ионы Ca^{2+} , зеленым – ионы Mg^{2+} . Структура комплекса VIIa/TF визуализирована с использованием pdb-файла 3TH2 (Protein Data Bank) [31]

Fig. 3. The complex of tissue factor extracellular domain and factor VIIa. Blue – tissue factor, red – light chain of factor VIIa, gray – heavy chain of factor VIIa, orange – Ca^{2+} ions, green – Mg^{2+} ions. Structure of VIIa/TF complex visualized using 3TH2 pdb-file (Protein Data Bank) [31]

домены фактора VIIa (см. рис. 1, фиолетовый). При этом наиболее важные из них – это Lys20, Trp45, Asp58, Tyr94 и Phe140 [27].

Локализация и функции тканевого фактора в норме

Экспрессия TF неодинакова в различных органах и тканях организма. Иммуногистохимический анализ замороженных образцов тканей показал, что TF мало или он не содержится в печени, скелетных мышцах, суставах. Его экспрессия велика в легких, миокарде, мозге, слизистой оболочке кишечника, эпидермисе кожи, почечных клубочках [32, 33]. В сосудах TF значительно экспрессируется в адвентициальной оболочке, в меди его экспрессия меньше [34, 35]. TF не экспрессируется клетками эндотелия сосуда и в капиллярах [35].

В кровотоке TF присутствует на поверхности внеклеточных мембранных везикул [5] или в растворимой форме asTF [19].

Несмотря на то что в лабораторных условиях свертывание крови может быть инициировано по контактному пути (с участием фактора XII), *in vivo* основным инициатором свертывания считается TF.

При контакте с плазмой крови TF связывает протеолитический фермент, фактор VIIa, и его неактивный предшественник, фактор VII. В результате формируются комплексы VIIa/TF и VII/TF соответственно, в которых TF выполняет функции аллостерического кофактора, а фактор VIIa – активной субъединицы. Связывание с TF абсолютно необходимо для функционирования фактора VIIa в свертывании, поскольку до связывания фактор VIIa гораздо менее протеолитически активен [36]. Комплекс VII/TF неактивен [37], однако может быстро активироваться под действием других протеаз системы свертывания крови, в число которых входят фактор Ха, тромбин, фактор IXa и фактор XIIa [38–40]. Кроме этого, комплекс VII/TF способен к автоактивации [41–43].

Комплекс VIIa/TF связывает и активирует факторы X и IX с образованием Ха и IXa соответственно [44, 45]. Эта реакция первая в системе последовательных каталитических превращений белков плазмы крови, факторов свертывания, из неактивных предшественников в активные протеазы. Данная система реакций составляет плазменное звено гемостаза (системы остановки кровотечения). Ее результатом является превращение протромбина в тромбин, который расщепляет фибриноген с образованием фибрина. Фибрин способен полимеризоваться, в результате чего формируется фибриновый сгусток, и плазма желируется. Другое звено гемостаза – сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, заключающийся в сужении просвета сосуда, активации тромбоцитов (в том числе тромбином) и их агрегации. В результате совместного действия звеньев формируется тромбоцитарный агрегат, скрепленный фибриновыми нитями, который в норме

образуется в месте повреждения сосуда и препятствует вытеканию крови [46, 47].

Тканевый фактор принимает также участие в росте формирующегося тромба. Модели тромбоза *in vitro* показали, что TF аккумулируется в тромбе, формирующемся на покрытой коллагеном подложке или на меди из артерии свиньи [5]. Этот TF активен, и при внесении в систему ингибитора TF (фактора VIIa – фактора VIIa с ингибированным каталитическим сайтом) размер формирующегося тромба существенно сокращается [5]. Аналогичные результаты были получены в мышинной модели лазериндуцированного тромбоза [6]. При этом накопление TF в тромбе зависело от экспрессии P-селектина на поверхности тромбоцитов и гликопротеинового лиганда 1 P-селектина (PSGL-1) на поверхности лейкоцитов. У генетически модифицированных мышей, не экспрессирующих либо P-селектин, либо PSGL-1, TF не аккумулировался в тромбе, и при этом количество сформировавшегося фибрина также сокращалось [6].

Однако помимо важной роли в свертывании крови TF выполняет и другие физиологические функции. Так, он влияет на миграцию клеток. Миграция клеток гладкой мускулатуры в ответ на эмбриональную бычью сыворотку значительно ослаблена у мышей с пониженной экспрессией TF [7]. Миграция клеток с нормальной экспрессией TF усиливается в присутствии фактора VIIa [7] и ингибируется TFPI (ингибитором пути TF) [48].

Локализация тканевого фактора при онкологических заболеваниях

При онкологических заболеваниях экспрессия TF изменяется по сравнению с его экспрессией в здоровом организме. Клетки множества типов злокачественных новообразований содержат значительное количество TF, что было показано с помощью иммуногистохимического анализа образцов злокачественных тканей пациентов [2, 12, 49–52], иммунохимического анализа клеточных культур [53] и анализа полимеразной цепной реакции (ПЦР) мРНК TF в опухолевых клетках различных типов [50, 52–54].

В ходе иммуногистохимического исследования было продемонстрировано, что для многих типов опухолей уровень экспрессии TF коррелирует с клинической стадией злокачественного новообразования или со степенью его дифференцировки (см. таблицу). TF экспрессируется опухолевыми клетками значительно сильнее, чем здоровыми [12, 53, 55].

У пациентов со злокачественными новообразованиями множества типов повышена также концентрация TF в плазме крови по сравнению с таковой у здоровых доноров [56–59]. Концентрация TF-положительных везикул в плазме при метастазирующих опухолях больше, чем при не метастазирующих [57]. При проведении химиотерапии количество TF-положительных везикул в плазме также растет [57].

При онкологических заболеваниях ТФ играет роль в таких важных для развития опухоли процессах, как неоангиогенез и метастазирование, а также в возникновении нарушений системы гемостаза.

Нарушения в системе гемостаза. Существует большое количество данных, подтверждающих роль ТФ в развитии ВТ и ТГВ. Их связь с онкологическими заболеваниями была подробно описана еще в середине XIX века Арманом Труссо. В современных работах проведены исследования на больших группах пациентов с различными типами опухолей, подтверждающие эту связь. Так, пациенты с онкологическими заболеваниями подвержены развитию ВТ и ТГВ [60–62]. При этом наибольший риск возникновения ВТ/ТГВ существует у пациентов со злокачественными опухолями в почках, яичниках, желудке, поджелудочной железе и мозге, а также при лимфоме, наименьший риск – при опухолях головы/шеи, груди, матки или мочевого пузыря [60]. Вероятность рецидивирующей ВТ/ТГВ в течение 180 дней после лечения диагностированной ВТ/ТГВ гораздо выше у пациентов со злокачественными опухолями по сравнению с пациентами без них. Возникновение ВТ/ТГВ коррелирует с клинической стадией опухоли: вероятность ВТ/ТГВ выше для пациентов с опухолями более продвинутых стадий [61, 62]. Также возникновение ВТ/ТГВ коррелирует с выживаемостью больных: у пациентов с ВТ прогноз хуже, чем у пациентов без нее [60, 62]. Кроме этого, у пациентов с диагностированной ВТ/ТГВ, но без онкологических заболеваний риск последующей диагностики онкологических заболеваний выше, чем в общей популяции, особенно в течение первых 6 мес после первичного диагноза ВТ/ТГВ [63].

Результаты иммуногистохимических исследований показали, что существует корреляция риска развития ВТ/ТГВ с уровнем экспрессии ТФ опухолевыми клетками (см. таблицу).

Значительную роль в развитии ВТ/ТГВ играют ТФ-положительные везикулы в плазме крови. На больших группах пациентов с различными типами опухолей было показано, что в плазме пациентов с онкологическими заболеваниями и ВТ повышена как концентрация ТФ-положительных везикул [57, 58], так и их прокоагулянтная активность [58, 64] по сравнению с пациентами без ВТ или со здоровыми донорами.

Роль ТФ в неоангиогенезе. Существует значительное число исследований, подтверждающих роль ТФ, экспрессируемого клетками опухоли, в развитии опухолевых сосудов.

Неоваскуляризация абсолютно необходима для роста и развития опухоли, поскольку без формирования собственных кровеносных сосудов или доступа к сосудистой системе пациента опухоль не может вырасти больше 1–2 мм³ и метастазировать [65].

Результаты иммуногистохимических исследований показали, что высокая экспрессия ТФ клетками

опухоли коррелирует как с высокой плотностью сосудов в опухоли, так и с высокой экспрессией фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), важного цитокина, способствующего ангиогенезу (см. таблицу).

Механизмы, по которым тканевый фактор может влиять на ангиогенез

1. Не напрямую, влияя на экспрессию других молекул, участвующих в ангиогенезе.

Так, фибробласты человека экспрессируют повышенный уровень VEGF в присутствии фактора VIIa. Антитела, препятствующие связыванию VIIa с ТФ, блокировали этот эффект, из чего был сделан вывод о том, что усиление экспрессии VEGF является ТФ-зависимым. Кроме этого, для экспрессии повышенного уровня VEGF была необходима протеолитическая активность VIIa, поскольку в присутствии VIIa с ингибированным активным сайтом эффект был на 70 % слабее. Для повышения экспрессии VEGF требуется активация протеинкиназы С (PKC) и тирозинкиназ, так как специфические антагонисты PKC и генистеин (ингибитор тирозинкиназ) ослабляют ТФ-зависимый синтез VEGF [66].

2. Через комплекс VIIa/ТФ и рецепторы PAR1 и PAR2, по независимому от свертывания механизму [11, 67, 68].

Этот путь зависит от присутствия фактора роста тромбоцитов (PDGF-BB), и ингибирование тирозинкиназного домена рецептора PDGFβ ослабляет усиление ТФ-зависимого формирования сосудов. *In vivo* в мышинных моделях индуцированной кислородом ретинопатии и с помощью анализа ангиогенеза микрососудов вокруг мышины аорты [67, 68] было показано, что этот путь эффективно отрицательно регулируется цитоплазматическим доменом ТФ. Так, усиление ангиогенеза через PAR2 наблюдалось только у мышей, экспрессирующих ТФ с урезанным цитоплазматическим доменом (без 18 С-концевых аминокислотных остатков) и не наблюдалось у мышей с ТФ дикого типа [67, 68]. Важную роль в регуляции сигнализации VIIa/ТФ через PAR2 играет фосфорилирование остатков серина цитоплазматического домена ТФ. Так, фосфорилированный ТФ наблюдается только в тканях, в которых идет патологическая неоваскуляризация, и не наблюдается в тканях без этой патологии. Таким образом, возможно, что фосфорилирование остатков серина цитоплазматического домена ТФ «отключает» его ингибирующее воздействие на сигнализацию через PAR2, что приводит к усилению ангиогенеза [67, 68].

3. Через связывание с интегринами αvβ3 и αβ1.

AsTF активирует ангиогенез по независимому от PAR2 пути через связывание с интегринами αvβ3 и αβ1 на поверхности эндотелиальных клеток. При этом миграция эндотелиальных клеток зависит от интегрина αvβ3 и функционирования p38 MAP-киназы и PI3-киназы, а формирование

Результаты популяционных исследований, полимеразной цепной реакции в реальном времени и иммуногистохимических исследований опухолей пациентов с онкологическими заболеваниями
The results of population studies, real-time polymerase chain reaction and immunohistochemistry of tumors in cancer patients

| Опухоль Tumor | Корреляция уровня экспрессии TF с клинической стадией или со степенью дифференцировки Correlation of TF expression level with clinical stage or degree of differentiation | Корреляция уровня экспрессии TF с плотностью сосудов в опухоли/экспрессией VEGF Correlation of TF expression level with tumor blood vessels density/VEGF expression | Корреляция уровня экспрессии TF с развитием венозной тромбоэмболии Correlation of TF expression level with venous thromboembolism development | Корреляция уровня экспрессии TF с общей выживаемостью пациентов Correlation of TF expression level with overall survival of patients | Ссылка Reference |
|--|--|--|--|--|---------------------|
| Глиома Glioma | Высокая экспрессия TF при IV стадии (глиобластома) и низкая – при I (пилочитарная астроцитома) и II (астроцитома) стадиях High TF expression in stage IV (glioblastoma) and low in stage I (pilocytic astrocytoma) and II (astrocytoma) | Высокая плотность сосудов при высокой экспрессии TF High vascular density with high TF expression | ND | ND | [53] |
| Уvealная меланома Uveal melanoma | ND | ND | Нет корреляции No correlation | ND | [69] |
| Рак молочной железы Breast cancer | Нет корреляции No correlation | Высокая плотность сосудов при высокой экспрессии TF High vascular density with high TF expression | ND | ND | [52] |
| | Нет корреляции No correlation | ND | ND | Выживаемость выше при низкой экспрессии TF Survival higher with low TF expression | [49] |
| | Нет корреляции No correlation | Высокая плотность сосудов и экспрессия VEGF при высокой экспрессии TF High vascular density and VEGF expression with high TF expression | ND | Выживаемость выше при низкой экспрессии TF Survival higher with low TF expression | [70] |
| Немелкоклеточный рак легкого Non-small cell lung cancer | Высокая экспрессия TF характерна для III и IV стадий, низкая – для I и II стадий High TF expression is characteristic for stage III and IV, low for I and II | ND | Нет корреляции No correlation | Выживаемость выше при низкой экспрессии TF, но различие не достигает статистической значимости Survival higher with low TF expression, but the difference does not reach statistical significance | [71] |
| | Высокая экспрессия TF характерна для III и IV стадий, низкая – для I и II стадий High TF expression is characteristic for stage III and IV, low for I and II | ND | ND | Выживаемость выше при низкой экспрессии TF Survival higher with low TF expression | [72] |

| Опухоль Tumor | Корреляция уровня экспрессии TF с клинической стадией или со степенью дифференцировки Correlation of TF expression level with clinical stage or degree of differentiation | Корреляция уровня экспрессии TF с плотностью сосудов в опухоли/экспрессией VEGF Correlation of TF expression level with tumor blood vessels density/VEGF expression | Корреляция уровня экспрессии TF с развитием венозной тромбоземболии Correlation of TF expression level with venous thromboembolism development | Корреляция уровня экспрессии TF с общей выживаемостью пациентов Correlation of TF expression level with overall survival of patients | Ссылка Reference |
|--|---|--|---|---|---------------------|
| Протоковая аденокарцинома поджелудочной железы Pancreatic ductal adenocarcinoma | Высокая экспрессия TF более характерна для низкодифференцированных опухолей, низкая – для высокодифференцированных High TF expression is more characteristic for low differentiated tumors, low – for highly differentiated tumors | ND | ND | ND | [51] |
| Аденокарцинома поджелудочной железы Pancreatic adenocarcinoma | Высокая экспрессия TF более характерна для IVa, IVb стадий по сравнению со стадиями I–III High expression of TF is more characteristic for stages IVa, IVb compared with stages I–III | ND | ND | Выживаемость выше при низкой экспрессии TF Survival higher with low TF expression | [73] |
| Аденокарцинома поджелудочной железы Pancreatic adenocarcinoma | Высокая экспрессия TF более характерна для низкодифференцированных опухолей, низкая – для высокодифференцированных High TF expression is more characteristic for low differentiated tumors, low – for highly differentiated tumors | Высокая плотность сосудов и экспрессия VEGF при высокой экспрессии TF High vascular density and VEGF expression with high TF expression | Вероятность венозной тромбоземболии выше при высокой экспрессии TF Venous thromboembolism probability is higher with high TF expression | Выживаемость выше при низкой экспрессии TF Survival higher with low TF expression | [12] |
| Опухоль желудка Gastric cancer | Высокая экспрессия TF характерна для стадий III и IVa по TNM-классификации, низкая – для I и II High TF expression is characteristic for TNM stage III and IVa, low – for I and II | Высокая плотность сосудов при высокой экспрессии TF High vascular density with high TF expression | ND | Выживаемость выше при низкой экспрессии TF Survival higher with low TF expression | [74] |
| Нефробластома Nephroblastoma | Нет корреляции No correlation | ND | ND | Выживаемость выше при низкой экспрессии TF Survival higher with low TF expression | [1] |
| Светлоклеточный рак почки Renal clear cell carcinoma | Высокая экспрессия TF характерна для стадий III и IV по TNM-классификации, низкая – для I и II High TF expression is characteristic for TNM stage III and IV, low – for I and II | ND | ND | Выживаемость выше при низкой экспрессии TF Survival higher with low TF expression | [2] |

Окончание таблицы
End of table

| Опухоль Tumor | Корреляция уровня экспрессии TF с клинической стадией или со степенью дифференцировки Correlation of TF expression level with clinical stage or degree of differentiation | Корреляция уровня экспрессии TF с плотностью сосудов в опухоли/ экспрессией VEGF Correlation of TF expression level with tumor blood vessels density/VEGF expression | Корреляция уровня экспрессии TF с развитием венозной тромбоземболии Correlation of TF expression level with venous thromboembolism development | Корреляция уровня экспрессии TF с общей выживаемостью пациентов Correlation of TF expression level with overall survival of patients | Ссылка Reference |
|--|---|---|---|---|---------------------|
| Гепатоцеллюлярная карцинома Hepatocellular carcinoma | Высокая экспрессия TF характерна для стадий III и IVa по TNM-классификации, низкая – для I и II High TF expression is characteristic for TNM stage III and IVa, low - for I and II | Высокая плотность сосудов и экспрессия VEGF при высокой экспрессии TF High vascular density and VEGF expression with high TF expression | ND | Выживаемость выше при низкой экспрессии TF Survival higher with low TF expression | [55] |
| Эпителиальная карцинома яичников Epithelial ovarian carcinoma | Высокая экспрессия TF характерна для стадий I, низкая – для стадий III и IV High TF expression – for stage I, low – for stage III and IV | ND | Вероятность венозной тромбоземболии выше при высокой экспрессии TF Venous thromboembolism probability is higher with high TF expression | ND | [13] |
| Карцинома предстательной железы Prostate carcinoma | Нет корреляции No correlation | Высокая плотность сосудов при высокой экспрессии TF High vascular density with high TF expression | ND | ND | [75] |
| Остеосаркома Osteosarcoma | ND | ND | ND | Выживаемость выше при низкой экспрессии TF Survival higher with low TF expression | [76] |

Примечание. TF – тканевый фактор; VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; ND – не определено.
Note. TF – tissue factor; VEGF – vascular endothelial growth factor; ND – no data.

капилляров — от интегрин $\alpha\beta 1$ и функционирования p42/p44 MAP-киназы и PI3-киназы [76].

Однако, несмотря на приведенное выше разнообразие механизмов, по которым TF, экспрессируемый самими опухолевыми клетками, способствует ангиогенезу и развитию онкологического заболевания, внеклеточный домен TF, направленно доставленный в опухолевые сосуды, может ингибировать рост опухоли. Речь идет об урезанном внеклеточном домене TF, состоящем из аминокислот 1–219 или 1–218, экспрессированном в *E. coli*, к которому «пришивались» антитела или аминокислотные последовательности для его направленной доставки в сосуды опухоли. В качестве специфичных маркеров опухолевых сосудов может выступать изоформа аминопептидазы N (CD13) [77] или ED-B домен фибронектина, присутствующий в сайтах патологической неоваскуляризации, но отсутствующий в нормальных тканях [78]. В мышинных моделях опухолей такой TF вводился в хвостовую вену [77], после чего быстро вызывал окклюзию опухолевых сосудов, остановку роста опухоли и отмирание ее клеток, при этом не вызывая никаких патологических изменений в органах животных [78].

Роль TF в метастазировании. Метастазирование, т. е. развитие вторичных опухолей в местах, удаленных от первичной опухоли, зависит от большого числа физиологических процессов, включающих отделение клеток от первичной опухоли, их миграцию по сосудам, выживание, прикрепление к эндотелию, проникновение в ткани и рост во вторичном сайте. Часто метастазирование опухоли связано с худшим прогнозом для пациента.

Результаты иммуногистохимических исследований показали, что экспрессия TF клетками немелкоклеточного рака легкого [79], опухоли молочной железы [49] и протоковой аденокарциномы поджелудочной железы [73] коррелирует с метастазированием опухоли: экспрессия TF выше у метастазирующих опухолей по сравнению с неметастазирующими. Это косвенно свидетельствует о возможной функциональной роли TF в метастазировании.

Кроме этого, в литературе существует достаточно доказательств, что TF стимулирует миграцию клеток посредством активации рецептора PAR2 [80–83].

Далее подробно рассмотрены экспрессия TF опухолевыми клетками и его роль в развитии злокачественных новообразований некоторых типов.

Опухоли центральной нервной системы и глаз

Глиома

Экспрессия TF. С помощью иммуногистохимического анализа 34 фиксированных в 4 % параформальдегиде образцов глиомы было показано, что высокий уровень TF экспрессируют 90 % опухолей IV степени злокачественности (глиобластома) и только 20 % I степени (пилоцитарная астроцитома) и 43 % II степени

(астроцитома) [53], т. е. уровень экспрессии TF коррелирует со степенью злокачественности заболевания. При этом в данном исследовании в образцах нормальной ткани мозга TF не наблюдался.

Клеточная линия глиомы U251 также экспрессирует TF, что было показано с помощью иммунохимического анализа культуры клеток и ПЦР-анализа [53].

Увеальная меланома

Экспрессия TF. При исследовании с участием пациентов с увеальной меланомой было обнаружено, что клетки в 9 образцах опухолей содержали TF [52].

Клеточная линия увеальной меланомы, содержащая преимущественно эпителиоидные клетки, Mel290 экспрессирует TF, в отличие от линии Mel270, содержащей веретенообразные клетки, которая TF не экспрессирует [52].

Рак молочной железы

Экспрессия TF. При иммуногистохимическом анализе 213 образцов ткани рака молочной железы корреляции степени экспрессии TF с клинической стадией не выявлено [49], однако 90 % образцов содержали TF.

В отличие от эндотелия нормального кровеносного сосуда эндотелиальные клетки кровеносных сосудов злокачественной опухоли молочной железы экспрессируют TF [84]. Интересно, что эндотелий доброкачественных опухолей молочной железы не содержит TF [84], поэтому экспрессия TF эндотелиальными клетками может быть важным маркером злокачественности новообразования.

Прогностическое значение экспрессии TF. Анализ выживаемости показал, что уровень экспрессии TF клетками опухоли молочной железы коррелирует с общей выживаемостью пациентов [49]. Общая выживаемость выше у пациентов с новообразованиями, клетки которых не экспрессируют TF или экспрессируют малые его количества, и ниже у пациентов с новообразованиями, клетки которых экспрессируют высокие концентрации TF (см. таблицу). Таким образом, низкая экспрессия TF может являться важным фактором для более благоприятного прогноза.

Тканевый фактор и нарушения системы гемостаза. Культуры клеточных линий рака молочной железы MDA-MB-231 и MCF-10A экспрессируют TF, и он является прокоагулянтно активным [85, 86]. При этом метастазирующая клеточная линия MDA-MB-231 активирует свертывание лучше, чем неметастазирующая MCF-10A [86]. При метастазировании, когда такие клетки переносятся кровотоком, TF на их поверхности входит в контакт с плазмой крови, что может активировать систему свертывания крови и внести вклад в развитие тромбоза [86].

Клеточная линия MDA-MB-231 способна также испускать несущие TF везикулы в ответ на стимуля-

цию рецептора PAR2 пептидом SLIGRL. Эти везикулы могут активировать свертывание [85].

Роль TF в метастазировании. Согласно иммуногистохимическим исследованиям экспрессия TF клетками рака молочной железы [49] коррелирует с метастазированием опухоли: экспрессия TF больше у метастазирующих опухолей по сравнению с неметастазирующими.

На клеточной линии рака молочной железы MDA-MB-453 было показано, что клетки этой линии экспрессируют не только TF, но и фактор VIIa, причем гипоксия вызывает его синтез [54]. Этот фактор VIIa является каталитически активным, способен связываться с TF, и блокировка этого связывания антителами к TF нарушает миграцию и инвазию клеток.

В экспериментах на клеточной линии MDA-MB-231 использование блокирующих антител против TF и PAR2 показало, что комплекс VIIa/TF усиливает миграцию клеток рака молочной железы через активацию PAR2, причем фактор VIIa является хемоаттрактантом для этих клеток [82]. На клеточной линии Adr-MCF-7 рака молочной железы было показано, что при концентрациях фактора VIIa, близких к физиологическим (порядка 10 нМ), TF в комплексе с VIIa и Ха активирует рецептор PAR2, и эта активация стимулирует миграцию клеток, причем присутствие фактора Ха абсолютно необходимо [80]. Активация PAR2 по этому пути приводит к фосфорилированию p42/p44 MAP-киназы, которое также абсолютно необходимо для клеточной миграции [80].

Немелкоклеточный рак легкого

Экспрессия TF. При немелкоклеточном раке легкого экспрессия TF опухолевыми клетками значительно выше для III и IV стадий по сравнению с I и II стадиями [71, 72], что было показано при анализе 53 и 39 образцов опухолей (см. таблицу).

Клетки немелкоклеточного рака легкого экспрессируют не только полноразмерный TF, но и его растворимую форму asTF [87], и его экспрессия значительно выше по сравнению с таковой в здоровых клетках.

У пациента с немелкоклеточным раком легкого было показано, что концентрация TF в плазме крови значительно превышает нормальные значения [58].

Прогностическое значение экспрессии TF. При немелкоклеточном раке легкого общая выживаемость пациентов выше при более низкой экспрессии TF опухолевыми клетками [72, 88] (см. таблицу).

Тканевый фактор и нарушения системы гемостаза. Результаты исследований *in vitro* на культурах клеточных линий аденокарциномы легкого (PC-3, ABC-1, A549) показали, что эти клетки способны активировать свертывание по TF-зависимому пути [79], поскольку антитела к TF блокировали прокоагулянтную активность.

Опухоли пищеварительной системы

Опухоли поджелудочной железы

Экспрессия TF. Для аденокарциномы поджелудочной железы экспрессия TF выше в низкодифференцированных опухолях по сравнению с высокодифференцированными [12, 51] (см. таблицу). При этом внутри опухоли TF распределен неравномерно: его экспрессия особенно повышена на инвазивном фронте [73]. В отличие от нормального эндотелия сосудов эндотелиальные клетки капилляров в аденокарциноме поджелудочной железы экспрессируют TF. Однако эта экспрессия слабая и идет преимущественно в капиллярах на периферии опухоли, в то время как большие сосуды внутри опухоли не демонстрируют экспрессии TF [51]. Также было показано, что неинвазивные предшественники инвазивной опухоли поджелудочной железы (интраэпителиальная неоплазия PanIN и внутрипротоковая папиллярная муцинозная опухоль IPMN) экспрессируют TF у большинства пациентов [12]. Здоровые клетки поджелудочной железы TF не экспрессируют [12, 51].

Клетки опухоли поджелудочной железы экспрессируют также asTF значительно сильнее, чем здоровые клетки [89]. В плазме крови пациентов с неоперабельными и метастазирующими опухолями концентрация asTF выше, чем в плазме не только здоровых доноров, но и пациентов с операбельными опухолями [70].

Прогностическое значение экспрессии TF. Анализ выживаемости показал, что при опухолях поджелудочной железы общая выживаемость пациентов выше, если клетки опухоли экспрессируют низкий уровень TF [12, 73].

Кроме этого, прогностическое значение может иметь уровень TF-положительных везикул в плазме крови пациента: прогноз хуже для пациентов с большей концентрацией везикул [69].

Тканевый фактор и нарушения системы гемостаза. Результаты иммуногистохимических исследований образцов опухолей показали, что для пациентов с аденокарциномой поджелудочной железы [12] риск развития ВТ/ТГВ выше в том случае, если клетки опухоли экспрессируют высокий уровень TF (см. таблицу).

Кроме этого, постепенный рост уровня TF в плазме в течение курса химиотерапии сопутствовал последующему развитию ВТ [90]. Таким образом, повышенный уровень TF во время курса химиотерапии может быть маркером развития ВТ. Однако другими исследователями было показано, что уровень TF-положительных везикул в плазме при опухоли поджелудочной железы не коррелирует с развитием ВТ [69].

Результаты исследований *in vivo* на мышцах показали, что у мышей с эктопическими опухолями поджелудочной железы (инъекция опухолевых клеток делается подкожно, после чего развивается эктопическая опухоль) в плазме крови присутствуют

TF-положительные везикулы. После стеноза нижней полой вены тромб сформировался у 100 % мышей с опухолями, но только у 2 из 7 здоровых животных [91]. Аналогично, тромб сформировался у 100 % здоровых мышей, которым сделали инъекцию везикул (0,2 мкг/г массы тела животного), испущенных культурой опухолевых клеток Panc02. С помощью модифицированных клеток Panc02, экспрессирующих низкие концентрации TF, была продемонстрирована необходимость присутствия TF на этих везикулах для формирования тромба [91]. Размер сформировавшихся тромбов был значительно меньше, чем в случае с инъекцией везикул от Panc02 с нормальной экспрессией TF. При формировании тромба микровезикулы аккумулируются в месте тромбоза. Таким образом, испущенные опухолью TF-положительные микровезикулы, возможно, способствуют развитию ВТ/ТГВ [91].

Испускаемый опухолевыми клетками asTF гораздо менее прокоагулянтно активен по сравнению с TF на поверхности везикул [89, 92]. Таким образом, основная прокоагулянтная активность ассоциирована не с asTF, а с TF-положительными микровезикулами.

Роль TF в неоангиогенезе. Результаты иммуногистохимических исследований показали, что для рака поджелудочной железы высокая экспрессия TF клетками опухоли коррелирует как с высокой плотностью сосудов в опухоли, так и с высокой экспрессией VEGF [12].

В мышинной модели подкожной опухоли из клеток рака поджелудочной железы было продемонстрировано, что повышенная экспрессия TF клетками MiaPaCa (которые обычно не экспрессируют TF) приводит к ослаблению роста опухоли [89]. Однако повышенная экспрессия этими клетками TF – продукта альтернативного сплайсинга (asTF), напротив, приводит к усилению роста опухоли и ангиогенеза [89].

Опухоли желудка

Экспрессия TF. Для опухолей желудка интестинального типа высокая экспрессия TF характерна для III и IV стадий по TNM-классификации, низкая – для I и II [74], что было показано при исследовании группы из 91 пациента.

Прогностическое значение экспрессии TF. Анализ выживаемости показал, что при опухолях желудка интестинального типа общая выживаемость пациентов выше, если клетки опухоли экспрессируют низкий уровень TF [74].

Роль TF в неоангиогенезе. Результаты иммуногистохимических исследований образцов опухолей желудка интестинального типа показали, что высокая экспрессия TF клетками опухоли коррелирует с высокой плотностью опухолевых сосудов [74]. Кроме этого, общая выживаемость пациентов существенно ниже при высокой плотности сосудов в опухоли [74].

Для клеточной линии SGC-7901 опухоли желудка высокая экспрессия TF клетками коррелировала с высокой экспрессией VEGF [93]. В мышинной модели эктопической опухоли желудка экспрессия VEGF зависела от цитоплазматического домена TF: при экспрессии урезанного варианта TF (без остатков 252–263 цитоплазматического домена) экспрессия VEGF и плотность опухолевых сосудов уменьшались [93].

Гепатоцеллюлярная карцинома

Экспрессия TF. При гепатоцеллюлярной карциноме [55] высокая экспрессия TF характерна для III и IV стадий по TNM-классификации, низкая – для I и II стадий.

В 2006 г. с помощью ПЦР в реальном времени была обнаружена комплементарная ДНК еще одной изоформы TF, экспрессируемой в культурах клеток аденокарциномы поджелудочной железы (Capan-2) и гепатоцеллюлярной аденокарциномы (HepG-2). Комплементарная ДНК этой изоформы, называемой TF-A, образуется в результате альтернативного сплайсинга мРНК, при котором между экзонами 1 и 2 появляется еще один экзон 1A, формирующийся из последовательности интрона 1. Присутствие мРНК TF-A на 2 порядка выше в клетках злокачественных опухолей по сравнению с таковым в здоровых тканях печени и плаценты [94].

Прогностическое значение экспрессии TF. При гепатоцеллюлярной карциноме выживаемость пациентов выше, если клетки новообразования экспрессируют более низкий уровень TF [55] (см. таблицу).

Роль TF в неоангиогенезе. Результаты иммуногистохимических исследований образцов опухолей показали, что для гепатоцеллюлярной карциномы высокая экспрессия TF клетками опухоли коррелирует как с высокой плотностью сосудов в опухоли, так и с высокой экспрессией VEGF [55].

Опухоли толстого кишечника

Экспрессия TF. Для опухолей толстого кишечника было показано, что в плазме крови пациентов существенно повышена концентрация TF-положительных микровезикул по сравнению со здоровыми донорами [56]. Концентрация везикул коррелирует с клинической стадией опухоли: она выше для III и IV стадий по сравнению с I и II [56]. TF-положительные микровезикулы в плазме пациентов имеют моноцитарную и тромбоцитарную природу [59], а также могут быть испущены опухолевыми клетками [85]. Несмотря на то что в норме тромбоциты не имеют детектируемого TF на поверхности [95], исследователи утверждают, что TF на тромбоцитарных везикулах может быть синтезирован другими клетками, а впоследствии перенесен на тромбоциты [59]. Примером таких клеток являются лейкоциты, TF с которых переносится на тромбоциты лейкоцитарными фосфолипидными везикулами [95, 96]. У пациентов с онкологическими

заболеваниями источником TF на тромбоцитарных везикулах могут быть опухолевые клетки [59], поскольку эти клетки также способны испускать TF-положительные микровезикулы [85, 97].

Тканевый фактор и нарушения системы гемостаза.

Для аденокарциномы толстой кишки на клеточной линии Сасо-2 было показано, что данные клетки экспрессируют прокоагулянтно активный TF, а также способны испускать TF-положительные прокоагулянтные везикулы в ответ на стимуляцию рецептора PAR2 пептидом SLIGRL [85].

Опухоли мочеполовой системы

Светлоклеточный рак почки

Экспрессия TF. Для светлоклеточного рака почки [2] высокая экспрессия TF характерна для III и IV стадий по TNM-классификации, низкая – для I и II стадий.

Прогностическое значение экспрессии TF. При опухолях почек общая выживаемость пациентов выше при более низкой экспрессии TF опухолевыми клетками [1, 2].

Эпителиальная карцинома яичников

Экспрессия TF. Для эпителиальной карциномы яичников высокая экспрессия TF опухолевыми клетками характерна для I стадии, низкая – для IV (см. таблицу).

Тканевый фактор и нарушения системы гемостаза.

Как показали результаты иммуногистохимических исследований, для пациентов с карциномой яичников [13] риск развития ВТ/ТГВ выше в случае высокой экспрессии TF опухолевыми клетками.

Опухоли костей, мягких тканей и кожи

Остеосаркома

Экспрессия TF. В исследовании с участием пациентов с остеосаркомой при анализе 53 образцов опухоли было выявлено, что все образцы экспрессируют TF [83].

Клеточные линии остеосаркомы U2OS, SAOS-2, MNNG-HOS и 143B экспрессируют как полноразмерный TF, так и его растворимую форму asTF [83]. При этом метастазирующая клеточная линия 143B экспрессирует в 2 раза больше TF по сравнению с неметастазирующей линией TE85 [98].

Прогностическое значение экспрессии TF. При остеосаркоме общая выживаемость пациентов выше при более низкой экспрессии TF опухолевыми клетками [83] (см. таблицу).

Тканевый фактор и нарушения системы гемостаза.

В 2012 г. у пациентов с остеосаркомой таза были обнаружены тромбы, ассоциированные с опухолью, причем опухолевые клетки внутри этих тромбов экспрессировали TF [98]. На культурах клеток остеосаркомы

(клеточные линии 143B, TE85) было показано, что эти клетки способны активировать свертывание по TF-зависимому пути. При этом метастазирующая клеточная линия 143B активирует свертывание значительно сильнее по сравнению с неметастазирующей линией TE85 [98].

Роль TF в неоангиогенезе. На мышинной модели эктопической остеосаркомы, полученной из клеточной линии 143B, было показано, что присутствие антител к TF, ингибирующих TF-зависимую активацию фактора X и рецептора PAR2, значительно снижает плотность опухолевых сосудов. Кроме этого, в присутствии этих антител значительно замедляется рост опухоли [83].

Роль TF в метастазировании. На клеточных линиях остеосаркомы 143B, U2OS, SAOS-2 и MNNG-HOS было показано, что инвазия этих клеток ингибируется в присутствии антител к TF [83], причем аналогичный эффект имели как антитела 10H10, блокирующие активацию PAR2 комплексом VIIa/TF, так и антитела, блокирующие активацию фактора X.

Фибросаркома

Роль TF в неоангиогенезе. В 1994 г. было впервые показано *in vivo*, что TF влияет на экспрессию молекул, участвующих в ангиогенезе, в клетках мышинной фибросаркомы [99]. Так, повышенная экспрессия TF клетками опухоли приводит к повышению плотности опухолевых сосудов и ускорению роста опухоли по причине усиления экспрессии VEGF и ослабления экспрессии тромбоспондинов, препятствующих ангиогенезу [99]. Механизм действия TF не зависит от свертывания, поскольку ингибирование свертывания варфарином не вносит вклад в наблюдаемые эффекты [99].

Роль TF в метастазировании. Как было показано *in vivo* на мышинной модели фибросаркомы [100], TF является критически важной молекулой для метастазирования, поскольку опухоли, клетки которых не экспрессируют TF, практически не метастазируют по сравнению с опухолями, клетки которых экспрессируют TF [100]. При этом внутриклеточный домен TF не влияет на метастазирование. TF способствует метастазированию, давая возможность метастазам избежать уничтожения NK-клетками [100]. Этот механизм функционирования TF зависит от присутствия в организме фибрина, тромбина и от функционирования тромбоцитов, поскольку у мышей, обладающих дефицитом тромбина, фибрина или дефектом функционирования тромбоцитов, связанным с нарушением G-белковой сигнализации, метастазы формируются значительно хуже по сравнению с нормальным контролем [100].

Меланома

Роль TF в неоангиогенезе. В клетках меланомы TF влияет на экспрессию молекул, участвующих в ангиогенезе. Экспрессия VEGF повышается с ростом

экспрессии TF, причем этот эффект зависит от цитоплазматического домена TF: при повышенной экспрессии урезанного варианта TF (без остатков 252–263 цитоплазматического домена) экспрессия VEGF практически не увеличивается. Наблюдаемый эффект не зависит от способности TF инициировать свертывание или от присутствия в среде фактора VIIa [101].

Роль TF в метастазировании. На мышинной модели меланомы [102] было показано, что опухоли, клетки которых экспрессируют TF без внутриклеточного домена или TF с мутированным внутриклеточным доменом (мутация Ser253 → Ala, Ser258 → Ala, Ser263 → Ala, не позволяющая фосфорилировать остатки Ser внутриклеточного домена) [102], формируют

значительно меньше метастаз по сравнению с опухолями, клетки которых экспрессируют полноразмерный TF. Таким образом, для меланомы внутриклеточный домен важен для метастазирования.

Заключение

Тканевый фактор принимает участие во многих (пато)физиологических процессах, результатом которых является прогрессирование онкологического заболевания. Его повышенная экспрессия клетками злокачественных опухолей может быть маркером более агрессивного течения заболевания. Это делает TF привлекательной молекулой-мишенью для терапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Maciel E.O., Carvalho G.F., da Silva V.D. et al. Increased tissue factor expression and poor nephroblastoma prognosis. *J Urol* 2009;182(4):1594–9. DOI: 10.1016/j.juro.2009.06.011.
- Silva D.D., Noronha J.A.P., Silva V.D., Carvalho G.F. Increased tissue factor expression is an independent predictor of mortality in clear cell carcinoma of the kidney. *Int Braz J Urol* 2014;40(4):499–506. DOI: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2014.04.08.
- Davis M.E. Glioblastoma: overview of disease and treatment. *Clin J Oncol Nurs* 2016;20(5 Suppl):S2–8. DOI: 10.1188/16.CJON.S1.2-8.
- Tsui K.H., Shvarts O., Smith R.B. et al. Prognostic indicators for renal cell carcinoma: a multivariate analysis of 643 patients using the revised 1997 TNM staging criteria. *J Urol* 2000;163(4):1090–5.
- Giesen P.L., Rauch U., Bohrmann B. et al. Blood-borne tissue factor: another view of thrombosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96(5):2311–5. DOI: 10.1073/pnas.96.5.2311.
- Falati S., Liu Q., Gross P. et al. Accumulation of tissue factor into developing thrombi *in vivo* is dependent upon microparticle P-selectin glycoprotein ligand 1 and platelet P-selectin. *J Exp Med* 2003;197(11):1585–98. DOI: 10.1084/jem.20021868.
- Pyo R.T., Sato Y., Mackman N., Taubman M.B. Mice deficient in tissue factor demonstrate attenuated intimal hyperplasia in response to vascular injury and decreased smooth muscle cell migration. *Thromb Haemost* 2004;92(3):451–8. DOI: 10.1160/TH04-02-0122.
- Bugge T.H., Xiao Q., Kombrinck K.W. et al. Fatal embryonic bleeding events in mice lacking tissue factor, the cell-associated initiator of blood coagulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93(13):6258–63. DOI: 10.1073/pnas.93.13.6258.
- Carmeliet P., Mackman N., Moons L. et al. Role of tissue factor in embryonic blood vessel development. *Nature* 1996;383(6595):73–5. DOI: 10.1038/383073a0.
- Toomey J.R., Kratzer K.E., Lasky N.M. et al. Targeted disruption of the murine tissue factor gene results in embryonic lethality. *Blood* 1996;88(5):1583–7.
- Hembrough T.A., Swartz G.M., Papatnassiu A. et al. Tissue factor/factor VIIa inhibitors block angiogenesis and tumor growth through a nonhemostatic mechanism. *Cancer Res* 2003;63(11):2997–3000.
- Khorana A.A., Ahrendt S.A., Ryan C.K. et al. Tissue factor expression, angiogenesis, and thrombosis in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13(10):2870–5. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2351.
- Sakurai M., Matsumoto K., Goshio M. et al. Expression of tissue factor in epithelial ovarian carcinoma is involved in the development of venous thromboembolism. *Int J Gynecol Cancer* 2017;27(1):37–43. DOI: 10.1097/IGC.0000000000000848.
- Morrissey J.H., Fakhrai H., Edgington T.S. Molecular cloning of the cDNA for tissue factor, the cellular receptor for the initiation of the coagulation protease cascade. *Cell* 1987;50(1):129–35. DOI: 10.1016/0092-8674(87)90669-6.
- Harlos K., Martin D.M., O'Brien D.P. et al. Crystal structure of the extracellular region of human tissue factor. *Nature* 1994;370(6491):662–6. DOI: 10.1038/370662a0.
- Ohkubo Y.Z., Morrissey J.H., Tajkhorshid E. Dynamical view of membrane binding and complex formation of human factor VIIa and tissue factor. *J Thromb Haemost* 2010;8(5):1044–3. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2010.03826.x.
- Mackman N., Morrissey J.H., Fowler B., Edgington T.S. Complete sequence of the human tissue factor gene, a highly regulated cellular receptor that initiates the coagulation protease cascade. *Biochemistry* 1989;28(4):1755–62.
- Paborsky L.R., Harris R.J. Post-translational modifications of recombinant human tissue factor. *Thromb Res* 1990;60(5):367–76. DOI: 10.1016/0049-3848(90)90219-3.
- Bogdanov V.Y., Balasubramanian V., Hathcock J. et al. Alternatively spliced human tissue factor: a circulating, soluble, thrombogenic protein. *Nat Med* 2003;9(4):458–62. DOI: 10.1038/nm841.
- Bogdanov V.Y., Kirk R.I., Miller C. et al. Identification and characterization of murine alternatively spliced tissue factor. *J Thromb Haemost* 2006;4(1):158–67. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2005.01680.x.
- Fair D.S. Quantitation of factor VII in the plasma of normal and warfarin-treated individuals by radioimmunoassay. *Blood* 1983;62(4):784–91.
- Morrissey J.H., Macik B.G., Neuen-schwander P.F., Comp P.C. Quantitation of activated factor VII levels in plasma using a tissue factor mutant selectively deficient in promoting factor VII activation. *Blood* 1993;81(3):734–44.
- Zwaal R.F., Comfurius P., Bevers E.M. Lipid-protein interactions in blood coagulation. *Biochim Biophys Acta* 1998;1376(3):433–53. DOI: 10.1016/S0304-4157(98)00018-5.
- Bach R., Gentry R., Nemerson Y. Factor VII binding to tissue factor in reconstituted phospholipid vesicles: induction of cooperativity by phosphatidylserine. *Biochemistry* 1986;25(14):4007–20.
- O'Brien D.P., Kemball-Cook G., Hutchinson A.M. et al. Surface plasmon resonance studies of the interaction between factor VII and tissue factor. Demonstration of defective tissue factor binding in a variant FVII molecule (FVII-R79Q). *Biochemistry* 1994;33(47):14162–9.
- McCallum C.D., Hapak R.C., Neuen-schwander P.F. et al. The location of the active site of blood coagulation factor VIIa above the membrane surface and its reori-

- entation upon association with tissue factor. A fluorescence energy transfer study. *J Biol Chem* 1996;271(45):28168–75.
27. Kelley R.F., Costas K.E., O'Connell M.P., Lazarus R.A. Analysis of the factor VIIa binding site on human tissue factor: effects of tissue factor mutations on the kinetics and thermodynamics of binding. *Biochemistry* 1995;34(33):10383–92.
 28. Gibbs C.S., McCurdy S.N., Leung L.L., Paborsky L.R. Identification of the factor VIIa binding site on tissue factor by homologous loop swap and alanine scanning mutagenesis. *Biochemistry* 1994;33(47):14003–10.
 29. Schullek J.R., Ruf W., Edgington T.S. Key ligand interface residues in tissue factor contribute independently to factor VIIa binding. *J Biol Chem* 1994;269(30):19399–403.
 30. Banner D.W., D'Arcy A., Chene C. et al. The crystal structure of the complex of blood coagulation factor VIIa with soluble tissue factor. *Nature* 1996;380(6569):41–6. DOI: 10.1038/380041a0.
 31. Vadivel K., Agah S., Messer A.S. et al. Structural and functional studies of gamma-carboxylglutamic acid domains of factor VIIa and activated Protein C: role of magnesium at physiological calcium. *J Mol Biol* 2013;425(11):1961–81. DOI: 10.1016/j.jmb.2013.02.017.
 32. Drake T.A., Morrissey J.H., Edgington T.S. Selective cellular expression of tissue factor in human tissues. Implications for disorders of hemostasis and thrombosis. *Am J Pathol* 1989;134(5):1087–97.
 33. Fleck R.A., Rao L.V., Rapaport S.I., Varki N. Localization of human tissue factor antigen by immunostaining with monospecific, polyclonal anti-human tissue factor antibody. *Thromb Res* 1990;59(2):421–37.
 34. Osterud B., Tindall A., Brox J.H., Olsen J.O. Thromboplastin content in the vessel walls of different arteries and organs of rabbits. *Thromb Res* 1986;42(3):323–29.
 35. Wilcox J.N., Smith K.M., Schwartz S.M., Gordon D. Localization of tissue factor in the normal vessel wall and in the atherosclerotic plaque. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86(8):2839–43. DOI: 10.1073/pnas.86.8.2839.
 36. Bom V.J., Bertina R.M. The contributions of Ca²⁺, phospholipids and tissue-factor apoprotein to the activation of human blood-coagulation factor X by activated factor VII. *Biochem J* 1990;265(2):327–36. DOI: 10.1042/bj2650327.
 37. Rao L.V., Rapaport S.I. Activation of factor VII bound to tissue factor: a key early step in the tissue factor pathway of blood coagulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85(18):6687–91. DOI: 10.1073/pnas.85.18.6687.
 38. Kisiel W., Fujikawa K., Davie E.W. Activation of bovine factor VII (proconvertin) by factor XIIa (activated Hageman factor). *Biochemistry* 1977;16(19):4189–94.
 39. Butenas S., Mann K.G. Kinetics of human factor VII activation. *Biochemistry* 1996;35(6):1904–10. DOI: 10.1021/bi951768c.
 40. Nemerson Y., Repke D. Tissue factor accelerates the activation of coagulation factor VII: the role of a bifunctional coagulation cofactor. *Thromb Res* 1985;40(3):351–8. DOI: 10.1016/0049-3848(85)90270-1.
 41. Waters E.K., Morrissey J.H. Restoring full biological activity to the isolated ectodomain of an integral membrane protein. *Biochemistry* 2006;45(11):3769–74. DOI: 10.1021/bi052600m.
 42. Neuenschwander P.F., Morrissey J.H. Deletion of the membrane anchoring region of tissue factor abolishes autoactivation of factor VII but not cofactor function. Analysis of a mutant with a selective deficiency in activity. *J Biol Chem* 1992;267(20):14477–82.
 43. Neuenschwander P.F., Fiore M.M., Morrissey J.H. Factor VII autoactivation proceeds via interaction of distinct protease-cofactor and zymogen-cofactor complexes. Implications of a two-dimensional enzyme kinetic mechanism. *J Biol Chem* 1993;268(29):21489–92.
 44. Ke K., Yuan J., Morrissey J.H. Tissue factor residues that putatively interact with membrane phospholipids. *PLoS One* 2014;9(2):e88675. DOI: 10.1371/journal.pone.0088675.
 45. Komiyama Y., Pedersen A.H., Kisiel W. Proteolytic activation of human factors IX and X by recombinant human factor VIIa: effects of calcium, phospholipids, and tissue factor. *Biochemistry* 1990;29(40):9418–25.
 46. Versteeg H.H., Heemskerk J.W.M., Levi M., Reitsma P.H. New fundamentals in hemostasis. *Physiol Rev* 2013;93(1):327–58. DOI: 10.1152/physrev.00016.2011.
 47. Шатурный В.И., Шахиджанов С.С., Свешникова А.Н., Пантелеев М.А. Активаторы, рецепторы и пути внутриклеточной сигнализации в тромбоцитах крови. *Биомедицинская химия* 2014;60(2):198–200. DOI: 10.18097/PBMC20146002182. [Shaturnyi V.I., Shakhidzhanov S.S., Sveshnikova A.N., Pantelev M.A. Activators, receptors and signal transduction pathways of blood platelets. *Biomeditsinskaya khimiya = Biomedical Chemistry* 2014;60(2):198–200. (In Russ.)].
 48. Sato Y., Kataoka H., Asada Y. et al. Overexpression of tissue factor pathway inhibitor in aortic smooth muscle cells inhibits cell migration induced by tissue factor/factor VIIa complex. *Thromb Res* 1999;94(6):401–6. DOI: 10.1016/S0049-3848(99)00032-8.
 49. Ueno T., Toi M., Koike M. et al. Tissue factor expression in breast cancer tissues: its correlation with prognosis and plasma concentration. *Br J Cancer* 2000;83(2):164–70. DOI: 10.1054/bjoc.2000.1272.
 50. Regina S., Rollin J., Blechet C. et al. Tissue factor expression in non-small cell lung cancer: relationship with vascular endothelial growth factor expression, microvascular density, and K-ras mutation. *J Thorac Oncol* 2008;3(7):689–97. DOI: 10.1097/JTO.0b013e31817c1b21.
 51. Kakkav A.K., Lemoine N.R., Scully M.F. et al. Tissue factor expression correlates with histological grade in human pancreatic cancer. *Br J Surg* 1995;82(8):1101–4. DOI: 10.1002/bjs.1800820831.
 52. Walker T.M., Van Ginkel P.R., Gee R.L. et al. Expression of angiogenic factors Cyr61 and tissue factor in uveal melanoma. *Arch Ophthalmol* 2002;120(12):1719–25. DOI: 10.1001/archophth.120.12.1719.
 53. Guan M., Jin J., Su B. et al. Tissue factor expression and angiogenesis in human glioma. *Clin Biochem* 2002;35(4):321–5. DOI: 10.1016/S0009-9120(02)00312-0.
 54. Koizume S., Jin M.-S., Miyagi E. et al. Activation of cancer cell migration and invasion by ectopic synthesis of coagulation factor VII. *Cancer Res* 2006;66(19):9453–60. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1803.
 55. Poon R.T.P., Lau C.P.Y., Ho J.W.Y. et al. Tissue factor expression correlates with tumor angiogenesis and invasiveness in human hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2003;9(14):5339–45.
 56. Zhao L., Bi Y., Kou J. et al. Phosphatidylserine exposing-platelets and microparticles promote procoagulant activity in colon cancer patients. *J Exp Clin Cancer Res* 2016;35:54. DOI: 10.1186/s13046-016-0328-9.
 57. Campello E., Spiezia L., Radu C.M. et al. Endothelial, platelet, and tissue factor-bearing microparticles in cancer patients with and without venous thromboembolism. *Thromb Res* 2011;127(5):473–7. DOI: 10.1016/j.thromres.2011.01.002.
 58. Del Conde I., Bharwani L.D., Dietzen D.J. et al. Microvesicle-associated tissue factor and Trousseau's syndrome. *J Thromb Haemost* 2007;5(1):70–4. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2006.02301.x.
 59. Hron G., Kollars M., Weber H. et al. Tissue factor-positive microparticles: cellular origin and association with coagulation activation in patients with colorectal cancer. *Thromb Haemost* 2007;97(1):119–23.
 60. Levitan N., Dowlati A., Remick S.C. et al. Rates of initial and recurrent thromboembolic disease among patients with malignancy versus those without malignancy. Risk analysis using Medicare claims data. *Medicine (Baltimore)* 1999;78(5):285–91.
 61. Brandes A.A., Scelzi E., Salmistraro G. et al. Incidence of risk of thromboembolism during treatment high-grade gliomas: a prospective study. *Eur J Cancer* 1997;33(10):1592–6. DOI: 10.1016/S0959-8049(97)00167-6.

62. Connolly G.C., Menapace L., Safadjou S. et al. Prevalence and clinical significance of incidental and clinically suspected venous thromboembolism in lung cancer patients. *Clin Lung Cancer* 2013;14(6): 713–8. DOI: 10.1016/j.clcc.2013.06.003.
63. Sorensen H.T., Mellekjaer L., Steffensen F.H. et al. The risk of a diagnosis of cancer after primary deep venous thrombosis or pulmonary embolism. *N Engl J Med* 1998;338(17):1169–73. DOI: 10.1056/NEJM199804233381701.
64. Manly D.A., Wang J., Glover S.L. et al. Increased microparticle tissue factor activity in cancer patients with venous thromboembolism. *Thromb Res* 2010;125(6):511–2. DOI: 10.1016/j.thromres.2009.09.019.
65. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst* 1990;82(1):4–6.
66. Ollivier V., Bentolila S., Chabbat J. et al. Tissue factor-dependent vascular endothelial growth factor production by human fibroblasts in response to activated factor VII. *Blood* 1998;91(8):2698–703.
67. Uusitalo-Jarvinen H., Kurokawa T., Mueller B.M. et al. Role of protease activated receptor 1 and 2 signaling in hypoxia-induced angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27(6):1456–62. DOI: 10.1161/ATVBAHA.107.142539.
68. Belting M., Dorrell M.I., Sandgren S. et al. Regulation of angiogenesis by tissue factor cytoplasmic domain signaling. *Nat Med* 2004;10(5):502–9. DOI: 10.1038/nm1037.
69. Thaler J., Preusser M., Ay C. et al. Intratumoral tissue factor expression and risk of venous thromboembolism in brain tumor patients. *Thromb Res* 2013;131(2):162–5. DOI: 10.1016/j.thromres.2012.09.020.
70. Unruh D., Sagin F., Adam M. et al. Levels of alternatively spliced tissue factor in the plasma of patients with pancreatic cancer may help predict aggressive tumor phenotype. *Ann Surg Oncol* 2015;22(Suppl 3):1206–11. DOI: 10.1245/s10434-015-4592-2.
71. de Meis E., Azambuja D., Ayres-Silva J.P. et al. Increased expression of tissue factor and protease-activated receptor-1 does not correlate with thrombosis in human lung adenocarcinoma. *Brazilian J Med Biol Res* 2010;43(4):403–8. DOI: 10.1590/S0100-879X2010007500017.
72. Regina S., Valentin J.B., Lachot S. et al. Increased tissue factor expression is associated with reduced survival in non-small cell lung cancer and with mutations of TP53 and PTEN. *Clin Chem* 2009;55(10):1834–42. DOI: 10.1373/clinchem.2009.123695.
73. Nitori N., Ino Y., Nakanishi Y. et al. Prognostic significance of tissue factor in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2005;11(7):2531–9. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0866.
74. Yamashita H., Kitayama J., Ishikawa M., Nagawa H. Tissue factor expression is a clinical indicator of lymphatic metastasis and poor prognosis in gastric cancer with intestinal phenotype. *J Surg Oncol* 2007;95:324–31. DOI: 10.1002/jso.20680.
75. Abdulkadir S.A., Carvalho G.F., Kaleem Z. et al. Tissue factor expression and angiogenesis in human prostate carcinoma. *Hum Pathol* 2000;31(4):443–7. DOI: 10.1053/hp.2000.6547.
76. van den Berg Y.W., van den Hengel L.G., Myers H.R. et al. Alternatively spliced tissue factor induces angiogenesis through integrin ligation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(46):19497–502. DOI: 10.1073/pnas.0905325106.
77. Bieker R., Kessler T., Schwoppe C. et al. Infarction of tumor vessels by NGR-peptide-directed targeting of tissue factor: experimental results and first-in-man experience. *Blood* 2009;113(20):5019–27. DOI: 10.1182/blood-2008-04-150318.
78. Nilsson F., Kosmehl H., Zardi L., Neri D. Targeted delivery of tissue factor to the ED-B domain of fibronectin, a marker of angiogenesis, mediates the infarction of solid tumors in mice. *Cancer Res* 2001;61(2):711–6.
79. Sawada M., Miyake S., Ohdama S. et al. Expression of tissue factor in non-small-cell lung cancers and its relationship to metastasis. *Br J Cancer* 1999;79(3–4): 472–7. DOI: 10.1038/sj.bjc.6690073.
80. Jiang X., Bailly M.A., Panetti T.S. et al. Formation of tissue factor-factor VIIa-factor Xa complex promotes cellular signaling and migration of human breast cancer cells. *J Thromb Haemost* 2004;2(1):93–101. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2004.00545.x.
81. Morris D.R., Ding Y., Ricks T.K. et al. Protease-activated receptor-2 is essential for factor VIIa and Xa-induced signaling, migration, and invasion of breast cancer cells. *Cancer Res* 2006;66(1):307–14. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1735.
82. Hjortoe G.M., Petersen L.C., Albrektsen T. et al. Tissue factor-factor VIIa-specific up-regulation of IL-8 expression in MDA-MB-231 cells is mediated by PAR-2 and results in increased cell migration. *Blood* 2004;103(8):3029–37. DOI: 10.1182/blood-2003-10-3417.
83. Tiekens C., Verboom M.C., Ruf W. et al. Tissue factor associates with survival and regulates tumour progression in osteosarcoma. *Thromb Haemost* 2016;115(5):1025–33. DOI: 10.1160/TH15-07-0541.
84. Contrino J., Hair G., Kreutzer D.L., Rickles F.R. *In situ* detection of tissue factor in vascular endothelial cells: correlation with the malignant phenotype of human breast disease. *Nat Med* 1996;2(2):209–15.
85. Ettelaie C., Collier M.E., Featherby S. et al. Analysis of the potential of cancer cell lines to release tissue factor-containing microvesicles: correlation with tissue factor and PAR2 expression. *Thromb J* 2016;14:2. DOI: 10.1186/s12959-016-0075-3.
86. Bery-Lang M.A., Aslan J.E., Tormoen G.W. et al. Promotion of experimental thrombus formation by the procoagulant activity of breast cancer cells. *Phys Biol* 2011;8(1):15014. DOI: 10.1088/1478-3975/8/1/015014.
87. Goldin-Lang P., Tran Q.V., Fichtner I. et al. Tissue factor expression pattern in human non-small cell lung cancer tissues indicate increased blood thrombogenicity and tumor metastasis. *Oncol Rep* 2008;20(1):123–8. DOI: 10.3892/or.20.1.123.
88. Koomagi R., Volm M. Tissue-factor expression in human non-small-cell lung carcinoma measured by immunohistochemistry: correlation between tissue factor and angiogenesis. *Int J Cancer* 1998;79(1):19–22. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0215(19980220)79:1<19::AID-IJC4>3.0.CO;2-Z.
89. Hobbs J.E., Zakarija A., Cundiff D.L. et al. Alternatively spliced human tissue factor promotes tumor growth and angiogenesis in a pancreatic cancer tumor model. *Thromb Res* 2007;120(Suppl 2):13–21. DOI: 10.1016/S0049-3848(07)70126-3.
90. Khorana A.A., Francis C.W., Menzies K.E. et al. Plasma tissue factor may be predictive of venous thromboembolism in pancreatic cancer. *J Thromb Haemost* 2008;6(11):1983–5. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2008.03156.x.
91. Thomas G.M., Brill A., Mezouar S. et al. Tissue factor expressed by circulating cancer cell-derived microparticles drastically increases the incidence of deep vein thrombosis in mice. *J Thromb Haemost* 2015;13(7):1310–9. DOI: 10.1111/jth.13002.
92. Yu J.L., Rak J.W. Shedding of tissue factor (TF)-containing microparticles rather than alternatively spliced TF is the main source of TF activity released from human cancer cells. *J Thromb Haemost* 2004;2(11):2065–7. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2004.00972.x.
93. Zhang J., Ding J., Zhang X. et al. Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) production and angiogenesis by tissue Factor (TF) in SGC-7901 gastric cancer cells. *Cancer Biol Ther* 2005;4(7):769–72.
94. Chand H.S., Ness S.A., Kiesel W. Identification of a novel human tissue factor splice variant that is upregulated in tumor cells. *Int J Cancer* 2006;118(7):1713–20. DOI: 10.1002/ijc.21550.
95. Del Conde I., Shrimpton C.N., Thiagarajan P., Lopez J.A. Tissue-factor-bearing microvesicles arise from lipid rafts and fuse with activated platelets to initiate coagulation. *Blood* 2005;106(5):1604–11. DOI: 10.1182/blood-2004-03-1095.
96. Rauch U., Bonderman D., Bohrmann B. et al. Transfer of tissue factor from leuko-

- cytes to platelets is mediated by CD15 and tissue factor. *Blood* 2000;96(1):170–5.
97. Hisada Y., Auriemma A.C., Alexander W. et al. Detection of tissue factor-positive extracellular vesicles by laser scanning confocal microscopy. *Thromb Res* 2017;150:65–72. DOI: 10.1016/j.thromres.2016.12.021.
98. Ichikawa J., Cole H.A., Magnussen R.A. et al. Thrombin induces osteosarcoma growth, a function inhibited by low molecular weight heparin *in vitro* and *in vivo*: procoagulant nature of osteosarcoma. *Cancer* 2012;118(9):2494–506. DOI: 10.1002/encr.26518.
99. Zhang Y., Deng Y., Luther T. et al. Tissue factor controls the balance of angiogenic and antiangiogenic properties of tumor cells in mice. *J Clin Invest* 1994;94(3):1320–7. DOI: 10.1172/JCI117451.
100. Palumbo J.S., Talmage K.E., Massari J.V. et al. Tumor cell-associated tissue factor and circulating hemostatic factors cooperate to increase metastatic potential through natural killer cell-dependent and-independent mechanisms. *Blood* 2007;110(1):133–41. DOI: 10.1182/blood-2007-01-065995.
101. Abe K., Shoji M., Chen J. et al. Regulation of vascular endothelial growth factor production and angiogenesis by the cytoplasmic tail of tissue factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96(15):8663–8. DOI: 10.1073/pnas.96.15.8663.
102. Bromberg M.E., Sundaram R., Homer R.J. et al. Role of tissue factor in metastasis: functions of the cytoplasmic and extracellular domains of the molecule. *Thromb Haemost* 1999;82(1):88–92.

Вклад авторов

Т.А. Коваленко: разработка дизайна исследования, написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи, анализ данных литературы;

М.А. Пантелеев: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи;

А.Н. Свешникова: разработка дизайна исследования, написание и редактирование текста рукописи.

Authors' contributions

T.A. Kovalenko: concept and design, article writing, reviewing of publications on the article's topic, literature data analysis;

M.A. Panteleev: concept and design, reviewing of publications on the article's topic;

A.N. Sveshnikova: concept and design, article writing and editing.

ORCID авторов/ORCID of authors

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

А.Н. Свешникова/A.N. Sveshnikova: <https://orcid.org/0000-0003-4720-7319>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа проведена при поддержке грантов Российского фонда фундаментальных исследований 17-54-04009, 17-00-00 138/17-00-00 140 и 18-34-20026.

Financing. The study was supported by Russian Basic Research Foundation, grants N 17-54-04009, 17-00-00 138/17-00-00 140 and 18-34-20026.

Статья поступила: 20.02.2019. **Принята к публикации:** 25.05.2019.

Article received: 20.02.2019. **Accepted for publication:** 25.05.2019.