

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«КИРОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕМАТОЛОГИИ И
ПЕРЕЛИВАНИЯ КРОВИ ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА»

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ТРАНСФУЗИОЛОГИИ, ОНКОГЕМАТОЛОГИИ И КЛЕТочНОЙ ТЕРАПИИ



МАТЕРИАЛЫ ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ
КОНФЕРЕНЦИИ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

КИРОВ - 2021

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания
крови Федерального медико-биологического агентства»

Актуальные вопросы трансфузиологии, онкогематологии и клеточной терапии

г.Киров

30 сентября - 1 октября 2021 года

УДК 615.38+616.1/.9

ББК 53

A437

Актуальные вопросы трансфузиологии, онкогематологии и клеточной терапии [Текст]: сб. материалов междунар. научн.-практ. конф. / [редкол.: И.В.Парамонов (отв. ред.) и др.] - Киров: ООО «Флат-Принт», 2021. – 200 с.

Conference Organizer:

FSBSI «Kirov Scientific Research Institute of Hematology and Blood Transfusion FMBA of Russia»

Editorial Council:

Responsible editor: I. V. Paramonov - Ph.D., director of FGBUN «Kirov Scientific Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of FMBA of Russia»;

Deputy Executive Editor: K.A. Vorobiev - Doctor of Biology Sciences, Deputy of Director for Research;

Executive Secretary: M.E. Kovtunova - Associate Professor, Scientific Secretary of the Institute.

Topical issues of transfusiology of oncohematology and cell therapy: a collection of scientific papers / FSBSI RRI of H&BT of FMBA of Russia. - Kirov: Open Company «Flat-Print», 2021. - 200 with.

ISBN 978-5-498-00801-1

Collection of scientific works of the All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation «Actual questions of transfusion of oncohematology and cell therapy». The collection contains articles on topical problems of industrial and clinical transfusiology, diagnosis and treatment of oncohematological diseases, hemostasis system disorders, cellular technologies.

© FSBSI «Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of FMBA of Russia», 2021

© Design. LLC «Concordica», 2021

ISBN 978-5-498-00801-1

Сборник включен в библиографическую базу данных eLIBRARY

СОДЕРЖАНИЕ

ВОПРОСЫ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ ТРАНСФУЗИОЛОГИИ

<i>Порохненко С.Г., Тарасов А.Н., Ковтунова М.Е.</i> Кировскому центру крови 85 лет	8
<i>Абрамовский С.В.</i> Деятельность отделения переливания крови многопрофильного стационара по программе безвозмездного обеспечения компонентами крови медицинских организаций	12
<i>Бутина Е.В., Попонина Е.А., Йовдий А.В., Шерстнев Ф.С.</i> Регистр доноров эритроцитов, типированных по антигенным системам Kell, Kidd, Duffy, MNS, Lewis, Lutheran, P1PK	15
<i>Вильданова Н.С., Попонина Е.А., Йовдий А.В., Воробьев К.А.</i> Соотношение титра и международных единиц содержания антирезус Rh ₀ (D) антител IgG в донорской плазме.	20
<i>Дегтярева Н.В., Комлев А.В., Дмитриева О.И.</i> Выявление маркеров гемотрансмиссивных инфекций на ФГБУЗ Станции переливания крови ФМБА России г. Ростов-на-Дону	24
<i>Землянских Н.Г., Бабийчук Л.А.</i> Механическая устойчивость эритроцитов и регуляция асимметрии мембран при криоконсервировании с глицерином	29
<i>Киселева Е.А., Касьянов А.Д., Данильченко В.В.</i> Качество компонентов при одновременной заготовке эритроцитов и тромбоцитов методом афереза у доноров	32
<i>Кормицикова Е.С., Воробьев К.А., Парамонов И.В., Кудашева Э.Ю.</i> Анализ специфической активности препаратов иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита	37
<i>Тюриков Ю.М., Харук А.И., Соловьева А.Е.</i> Деятельность станций переливаний крови - производителей препаратов крови	40
<i>Чечеткин А.В., Алексеева Н.Н., Старицына Н.Н.</i> Новый добавочный раствор для хранения концентрата тромбоцитов	44

ВОПРОСЫ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

- Бабийчук Л.А., Зубов П.М., Макашова Е.Е.* Эффективность тролокс-содержащего криозащитного раствора при криоконсервировании ядродержащих клеток кордовой крови человека 50
- Бутолина М.А., Ветошкин К.А., Новоселова И.А., Сарпова М.В.* Оценка кариотипа мезенхимальных стромальных клеток костного мозга в процессе культивирования 53
- Дризе Н.И.* Клиническое применение мультипотентных мезенхимных стромальных клеток костного мозга 57
- Злотникова М.В., Семенов Г.В., Карпенко Ф.Н.* HLA-типирование потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток в учреждениях службы крови Республики Беларусь.. . . . 60
- Калинина Е.Н., Минаева Н.В.* Внедрение системы менеджмента качества при осуществлении деятельности по заготовке гемопоэтических стволовых клеток 64
- Петинати Н.А.* Характеристики мультипотентных мезенхимных стромальных клеток костного мозга больных гемобластозами 68
- Пестрикова А.О., Бутолина М.А., Ветошкин К.А., Утемов С.В.* Сравнение методов выделения миелокариоцитов на градиенте плотности и с применением метилцеллюлозы 71
- Утемов С.В., Исаева Н.В., Пестрикова А.О., Бутолина М.А.* Изменения свойств декриоконсервированных отмытых гемопоэтических стволовых клеток в зависимости от временного фактора 76

ВОПРОСЫ ГЕМОСТАЗИОЛОГИИ

- Беляева Е.Л., Гуткин И.М.* Показатели фактора Виллебранда И ADAMTS-13 у пациентов с острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST, демонстрирующим максимальные значения тропонина I в первые сутки 83
- Васильева М.Ю., Колосков А.В.* Роль коллаген-связывающей способности фактора Виллебранда в диагностике болезни Виллебранда 1 типа 87

<i>Колосков А.В., Магушко А.А.</i> Прогностическое значение металлопротеиназы ADAMTS-13 в оценке рисков развития тромботических событий у пациентов с острым коронарным синдромом	91
<i>Колосков А.В., Чернова Е.В.</i> Мутации гена фактора V (Лейден) и гена протромбина G20210A не имеют диагностического или прогностического значения	94
<i>Кардовский А.Г., Шардаков В.И., Шерстнев Ф.С., Ковтунова М.Е.</i> Особенности лимфоцитарно-тромбоцитарной агрегации у доноров крови и ее компонентов	97
<i>Филиппова О.И., Колосков А.В.</i> Болезнь Виллебранда у пациентов с носовыми кровотечениями	101
<i>Фокина Е.С., Игнатъев С.В., Лянгузов А.В.</i> Оценка коагуляционного звена гемостаза у первичных больных лимфопролиферативными заболеваниями .	104

ВОПРОСЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

<i>Ванеева Е.В., Росин В.А., Дьяконов Д.А., Самарина С.В.</i> Взаимосвязь коэкспрессии pAKT1, pSYC с выживаемостью больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой.	111
<i>Дьяконов Д.А., Перфилова Е.А., Минаев М.С.</i> Иммуногистохимическая характеристика маркера PD-L1 в опухолевых клетках при нодулярном склерозе лимфомы Ходжкина	116
<i>Исаева Н.В., Зорина Н.А., Киселева А.Н.</i> Динамика параметров гемограммы при мобилизации гемопоэтических стволовых клеток у онкогематологических больных	121
<i>Карпова В.С., Воропаева Е.Н., Поспелова Т.И.</i> Характеристика поражения центральной нервной системы при диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме	127
<i>Козель Ю.Ю., Козюк О.В., Дмитриева В.В., Куцевалова О.Ю., Шашкина Л.Ю., Куштова Л.Б.</i> Современные возможности диагностики и лечения грибковых инфекций (клинический случай)	132

<i>Коновалова Е.А., Вильданова Н.С., Кормицикова Е.С., Фокина Е.С.</i> Результаты выявления маркеров грибковых инфекций у онкогематологических пациентов	140
<i>Лаптева Ю.С., Овсепян В.А., Сарпова М.В., Дьяконов Д.А.</i> Диагностика хромосомных аномалий методом FISH при множественной миеломе в случае низкого содержания опухолевых плазматических клеток в костном мозге . .	146
<i>Лучинин А.С., Минаева Н.В.</i> Эффективность комбинации бортезомиба, циклофосфана и дексаметазона в первой линии терапии пациентов с множественной миеломой: сравнительный анализ собственных результатов и международного опыта	152
<i>Минаев М.С., Перфилова Е.А., Дьяконов Д.А.</i> Корреляция между содержанием CD8-позитивных Т-лимфоцитов и течением нодулярного склероза лимфомы Ходжкина	157
<i>Никитин Е.Н., Грязева Е.М., Ходырев К.Л.</i> Инфекции индукционного периода химиотерапии у больных острым промиелоцитарным лейкозом.	162
<i>Попонина Е.А., Бутина Е.В., Йовдий А.В., Максимов О.Д.</i> Диагностические возможности прямого антиглобулинового теста у больных хроническим лимфолейкозом	166
<i>Росин В.А., Ванеева Е.В., Дьяконов Д.А., Самарина С.В.</i> Ассоциация pSTAT3-, pAKT1-позитивных опухолевых клеток с экспрессией c-MYC, p53, BCL2 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме.	171
<i>Сарпова М.В., Ванеева Е.В., Дьяконов Д.А., Росин В.А.</i> Взаимосвязь aberrаций в локусе 17P13 гена TP53 с иммуногистохимической экспрессией белка P53 при диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме	177
<i>Чуркина М.И., Поспелова Т.И., Воропаева Е.Н.</i> Метилирование генов микро-РНК MIR-34B/C, MIR-34A и MIR-203 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме	182

ВОПРОСЫ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ ТРАНСФУЗИОЛОГИИ

КИРОВСКОМУ ЦЕНТРУ КРОВИ 85 ЛЕТ

Порохненко Сергей Григорьевич

кандидат медицинских наук, заместитель главного врача Кировского областного государственного бюджетного учреждения здравоохранения

«Кировский центр крови»,

главный специалист -трансфузиолог Министерства здравоохранения

Кировской области, РФ, г. Киров

E-mail: sgoroh@yandex.ru

Тарасов Андрей Николаевич

главный врач Кировского областного государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Кировский центр крови», РФ, г. Киров

E-mail: tarasov_a@inbox.ru

Ковтунова Марина Евгеньевна

кандидат медицинских наук, доцент, ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: mkovtunova@yandex.ru

КИРОВ BLOOD CENTER IS 85 YEARS OLD

Sergey Porochnenko

candidate of Medical Sciences, Deputy Chief Physician of the Kirov Regional State Budgetary Healthcare Institution Kirov Blood Center, Chief Specialist-Transfusiologist of the Ministry of Health of the Kirov Region, Russia, Kirov

E-mail: sgoroh@yandex.ru

Andrey Tarasov

chief Physician of the Kirov Regional State Budgetary Healthcare Institution “Kirov Blood Center”, Russia, Kirov

E-mail: tarasov_a@inbox.ru

Marina Kovtunova

candidate of Medical Sciences, associate Professor, scientific Secretary, The Federal

Аннотация.

Кировскому государственному бюджетному учреждению здравоохранения «Кировский центр крови» в 2021 году исполнилось 85 лет. Представлена краткая история учреждения с момента его организации, основные этапы становления службы крови, его роль в развитии здравоохранения Кировской области.

Abstract.

The Kirov State Budgetary Healthcare Institution “Kirov Blood Center” celebrated its 85th anniversary in 2021. The article presents a brief history of the institution from the moment of its organization, the main stages of the formation of the blood service, its role in the development of health care in the Kirov region.

Ключевые слова: служба крови Кировской области; донорство; история.

Keywords: blood service of the Kirov region; donation; history.

Кировскому государственному бюджетному учреждению здравоохранения «Кировский центр крови» в 2021 году исполнилось 85 лет.

Известно, что первое переливание крови, подобранной по антигенам системы АВ0, в Вятке проведено в 1929 году. В Вятском городском роддоме родильнице Яровиковой, погибавшей от послеродового кровотечения, заведующий отделением А.Г. Гурьянов перелил подобранную кровь. В 1933 году при краевой (в настоящее время областной) больнице был создан пункт переливания крови, где доктор В.П. Крюков выполнил второе переливание крови родильнице (донор Е.Л. Сунцова).

Начиная с 1936 года, после реорганизации пункта переливания крови в «Кировскую областную станцию переливания крови», методы переливания крови стали внедряться по всей области. Практически во всех районах открылись пункты переливания крови, активно формировались кадры безвозмездных

доноров. В 1941 г. их насчитывалось более 500 человек, в год заготавливалось свыше 300 литров донорской крови.

К началу Великой Отечественной войны служба крови области была хорошо оснащена технически, имела квалифицированные медицинские кадры и достаточное количество доноров. Это позволило буквально с первых дней войны приступить к бесперебойному обеспечению донорской кровью госпитальной базы фронта и тыла. Число людей, добровольно сдающих кровь, возросло до 7 тысяч в год, пропускная способность станции составляла 150-200 человек в сутки, объем заготовленной донорской крови в 1945 году соответствовал 4200 литрам. Всего за годы войны Кировской областной станцией переливания крови было заготовлено 31115 литров донорской крови.

В послевоенные годы (1946 - 1961 гг.) параллельно с заготовкой донорской крови сотрудниками СПК освоена и широко применялась методика получения стандартных сывороток, организовано производство антирезусных сывороток, сухой плазмы.

В 1960 году, учитывая наличие в службе крови области огромного научного и производственного опыта, квалифицированных специалистов, активных донорских кадров, Министерство здравоохранения РСФСР открывает в Кирове филиал Ленинградского НИИ переливания крови, директором которого был назначен заведующий Кировским отделом здравоохранения Н.В. Шестаков. Часть сотрудников станции переливания крови перешла на работу во вновь открывшийся институт и в последующем составила достойный костяк научных и медицинских кадров – И.М. Думкин, Л.Г. Шканакин, В.И. Зленко и другие.

Основными направлениями деятельности института являлись разработка и совершенствование новых видов донорства крови и ее компонентов, костного мозга, получение препаратов крови, лечение заболеваний системы крови. Разработанные сотрудниками института методики заготовки донорской крови и ее компонентов, получения плазмы методом плазмафереза в выездных условиях и многие другие апробировались СПК, после чего рекомендовались для внедрения в практику учреждений службы крови страны.

В 70 – 90 годы станция переливания крови постепенно увеличивала объемы заготовки крови и квалифицировалась как СПК первой категории, число отделений переливания крови в районах области достигло 22. Сложная экономическая и

политическая обстановка в стране в 90 годах привела к значительному снижению количество доноров в регионе. Отсутствовало должное финансирование на приобретение оборудования и расходных материалов, наметился отток квалифицированных кадров, материально-техническое состояние учреждения не соответствовало нормативным требованиям.

Учитывая вышеизложенное, руководство области, областной отдел здравоохранения (руководитель Г.Ф. Шулятьев) принимают решение о кадровых перестановках на СПК, разрабатывается и реализуется Программа развития добровольного донорства и развития службы крови в Кировской области. Штат станции переливания крови пополняется молодыми перспективными сотрудниками - выпускниками Кировского медицинского института.

В 2005 г. в соответствии с Постановлением Правительства РФ в службе крови России произошла крайне необходимая реорганизация – она стала единой и управляемой по вертикали. Так, в Кировской области было организовано в составе областной станции переливания крови 6 (вместо 22) полноценных межрайонных отделений переливания крови, 4 отделения экспедиции по управлению запасами крови в районах. Произведена реконструкция старого здания СПК, выстроен административно-хозяйственный корпус. Практически заново отстроены и размещены в новых помещениях районные отделения переливания крови.

В 2009 году служба крови Кировской области переоснащена в рамках государственной программы по модернизации (при участии Правительства Кировской области). Это позволило расширить ассортимент выпускаемой продукции, значительно улучшить его качество и, самое главное, обеспечить постоянное круглосуточное снабжение компонентами донорской крови медицинских организаций региона.

Сегодня КОГБУЗ «Кировский центр крови» внедряет новые технологии получения компонентов крови, практически все этапы деятельности учреждения компьютеризированы. Так, программа АРМ-реципиент работает во всех медицинских организациях области и признана лучшей в России, добровольное безвозмездное донорство крови и ее компонентов получило дальнейшее развитие в соответствии с новыми требованиями.

В настоящее время Кировская область является уникальным сплавом науки и практики, поскольку на ее территории помимо территориального

центра крови функционируют еще три учреждения федерального подчинения, заготавливающие компоненты донорской крови. Это ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства» и ФГБУ «Российский медицинский научно-производственный центр «Росплазма» Федерального медико-биологического агентства» и ФБУЗ «Медико-санитарная часть №52» Федерального медико-биологического агентства. Четкое взаимодействие всех организаций, участие в научно-практических конференциях по вопросам клинической и производственной трансфузиологии положительно сказывается на развитии службы крови региона.

УДК 334.5

**ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ОТДЕЛЕНИЯ ПЕРЕЛИВАНИЯ КРОВИ
МНОГОПРОФИЛЬНОГО СТАЦИОНАРА ПО ПРОГРАММЕ
БЕЗВОЗМЕЗДНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ КОМПОНЕНТАМИ КРОВИ
МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ**

*Абрамовский Станислав Владимирович
заведующий отделением трансфузиологии
ФГБУ «Северо-Западный окружной научно-клинический центр им. Л.Г.
Соколова ФМБА России», РФ, г. Санкт-Петербург
E-mail: sv_abramovskiy@mail.ru*

**ACTIVITIES OF THE BLOOD TRANSFUSION DEPARTMENT OF THE
MULTIDISCIPLINE INPATIENT UNDER THE PROGRAM OF UNPAID
PROVISION OF BLOOD COMPONENTS TO MEDICAL ORGANIZATIONS**

*Stanislav Abramovskiy
Federal State Budgetary Institution North-West Regional Scientific Clinical Center
named after L.G. Sokolova FMBA of Russia, Russia, St. Petersburg
E-mail: sv_abramovskiy@mail.ru*

Аннотация.

Оценена производственная нагрузка по заготовке крови на одну штатную единицу отделения, определены изменения объема заготовки донорской крови и ее компонентов за исследуемый период, а также изучена возможность обеспечения потребностей сторонних лечебных учреждений в донорских компонентах крови, показано увеличение заготовки гемокомпонентов на штатную единицу более, чем в 2 раза, увеличение потока доноров крови в 1,9 раз, а доноров тромбоцитов - в 2,7 раз.

Abstract.

The production load for blood collection per staff unit of the department was estimated, changes in the volume of collection of donor blood and its components for the study period were determined, and the possibility of meeting the needs of third-party medical institutions in donor blood components was studied. As a result, an increase in the procurement of blood components per staff unit by a factor of 2.3 was shown, an increase in the flow of blood donors by 1.9 times, and by platelet donors by 2.7 times.

Ключевые слова: отделение переливания крови; заготовка крови; компоненты крови; тромбоциты, донор.

Keywords: blood transfusion department; blood collection; Tblood components; platelets; donor.

Целью работы являлся анализ производственной и экономической деятельности отделения переливания крови (ОПК) многопрофильного стационара по программе безвозмездного обеспечения компонентами крови медицинских организаций.

Были исследованы статистические показатели работы ОПК ФГБУ СЗОНКЦ им. Л.Г. Соколова ФМБА России за период с 2016 по 2019 годы. С 2017 года отделение переливания крови ФГБУ СЗОНКЦ им. Л.Г. Соколова ФМБА России принимает участие в работе по безвозмездному обеспечению клиник г. Санкт-Петербурга, имеющих потребность в компонентах донорской крови

Установлено, что за период с 2016 г. по 2019 г. количество принятых доноров

в ОПК СЗОНКЦ увеличилось на 62,4%, кроводач на безвозмездной основе - на 94,6%, значительно возросло количество безвозмездных донаций методом аппаратного тромбоцитафереза (на 166%). Мобилизованы ресурсы донорских кадров и достигнуто увеличение потока доноров крови в 1,9 раз, а для доноров тромбоцитов – в 2,7 раз. При этом внутренние потребности стационара СЗОНКЦ составили лишь 17% от общего объема заготовки, свежзамороженной плазмы – 21%, концентрата тромбоцитов – 8,4%. Объем заготовки цельной донорской крови на одну штатную единицу отделения увеличился на 110% и составил 385 л, а количество донаций любого типа на одну штатную единицу среднего персонала повысилось на 70,5% и составило 995. Значительное увеличение эффективности показала заготовка эритроцитсодержащих гемокомпонентов, с повышением полезной нагрузки на одного сотрудника в 1,7 раз. Частично для решения вопроса о своевременном восполнении дефицита в отделении была организована заготовка двойной дозы эритроцитов методом афереза. За 2019 год методом афереза заготовлено 18,4 л эритроцитной взвеси (на 165% больше в сравнении с 2016 годом), привлечены и обследованы 29 доноров для данной процедуры.

Интенсивный рост потребности в концентрате тромбоцитов со стороны внешних потребителей потребовал в кратчайшие сроки расширить базу доноров данного компонента. Заготовка реализована исключительно за счет аферезных методик как в плазме, так и в добавочном растворе.

Активно использовался аферезный способ получения свежзамороженной плазмы (СЗП). Полученная методом афереза СЗП имела удобный объем (600 мл) и заготавливалась при участии кадровых доноров. Однако увеличение объема заготовки СЗП, к сожалению, негативно отразилось на показателях брака.

Отмечено удовлетворение заявок на фоне роста потребности в эритроцитсодержащих средах на 137%, СЗП – на 63% и десятикратном увеличении потребности в концентрате тромбоцитов.

**РЕГИСТР ДОНОРОВ ЭРИТРОЦИТОВ, ТИПИРОВАННЫХ ПО
АНТИГЕННЫМ СИСТЕМАМ KELL, KIDD, DUFFY, MNS, LEWIS, LU-
THERAN, P1PK**

Бутина Елена Владимировна

*докт. мед. наук, зав. лабораторией иммуногематологии, Федеральное
государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-
исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального
медико-биологического агентства», РФ, г. Киров,
E-mail: butinalena@yandex.ru*

Попонина Елена Александровна

*канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории иммуногематологии,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский
научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров,
E-mail: senkina.elena@rambler.ru*

Йовдий Анна Васильевна

*канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории иммуногематологии,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский
научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров,
E-mail: annaovdii@bk.ru*

Шерстнёв Филипп Сергеевич

*канд. мед. наук, зав. отделением трансфузиологии и процессинга
гемопозитических стволовых клеток, Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт
гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического
агентства», РФ, г. Киров,
E-mail: sherstnyov_phil@mail.ru*

DATABASE OF RED BLOOD CELL DONORS TYPED BY ANTIGENIC SYSTEMS KELL, MNS, DUFFY, KIDD, P1PK, LEWIS, LUTHERAN

Elena Butina

PhD, MD, head of laboratory of Immunohematology, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: butinalena@yandex.ru

Elena Poponina

PhD, MD, Researcher, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: senkina.elena@rambler.ru

Anna Yovdiy

PhD, MD, Researcher, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: annaovdii@bk.ru

Philipp Sherstnev

PhD, MD, Head of the Department of Transfusiology and Processing of Hematopoietic Blood Stem Cells, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: sherstnyov_phil@mail.ru

Аннотация.

Представлено распределение антигенов эритроцитов систем Kell, MNS, Duffy, Kidd, P1PK, Lewis, Lutheran у доноров, проживающих в северной части Приволжского федерального округа России. Проанализирована эффективность работы регистра доноров, типированных по данным антигенным системам.

Abstract.

The article presents the features of the distribution of red blood cells antigens of Kell, MNS, Duffy, Kidd, P1PK, Lewis, Lutheran systems among donors living in the northern

part of the Volga Federal District of Russia. The efficiency of the database of donors typed according to these antigenic systems.

Ключевые слова: эритроциты; регистр; доноры; антигены; Kell; MNS; Duffy; Kidd; P1PK; Lewis; Lutheran.

Keywords: red blood cells, database, donors; antigens; Kell; MNS; Duffy; Kidd; P1PK; Lewis; Lutheran.

Планирование заготовки и хранения компонентов крови проводят с учетом частоты встречаемости фенотипов эритроцитов у жителей определенного региона [1, с.54-58; 2, с.53-62; 3, с.1732-1739]. Аллоиммунизация реципиентов к антигенам систем Kell, MNS, Duffy, Kidd, P1PK, Lewis, Lutheran может стать причиной посттрансфузионных осложнений (ПТО) при трансфузиях фенотипически несовместимых эритроцитов или затруднять подбор совместимых доноров [4, с.53-62; 5, с.56-58; 6, с.45-47].

Цель исследования – оценить эффективность работы регистра доноров, типированных по антигенам эритроцитов систем Kell, MNS, Duffy, Kidd, P1PK, Lewis, Lutheran.

Материалы и методы. Иммуногематологические исследования выполнены с использованием оборудования и реактивов фирмы BioRad (США). Частота встречаемости фенотипов эритроцитов систем Kell, MNS, Duffy, Kidd, Lewis, Lutheran, P1PK изучена у 234 доноров компонентов крови регистра ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России.

Результаты и обсуждение. Частота встречаемости фенотипов эритроцитов систем Kell, Kidd, Duffy, MNS, Lewis, Lutheran, P1PK у 334 доноров регистра ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России представлена в таблице. За основу иммуногематологического алгоритма формирования регистра доноров взят принцип универсальности определенных фенотипов систем АВО и Резус. Так, 50,2% доноров регистра имеют О(I) группу крови, 22,6% - А(II), 22,9% – В(III), 3,7% - АВ(IV). Фенотип ccdee у 33,6% доноров; CCDee - 37,4%; CcDee - 15,3%; ccDEE - 10,2%; ccDee – 2,4%, ccDEe – 0,6%, CcDEe – 0,6%.

Таблица 1. Распределение фенотипов эритроцитов систем Kell, Kidd, Duffy, MNS, Lewis, Lutheran, P1PK у доноров регистра ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России

Антигенная система	Фенотип эритроцитов	Частота встречаемости (%)
Kell	K-k+	95,19
	K+k+	4,80
	K+k-	0,11
	Kp(a+b-)	0
	Kp(a-b+)	98,9
	Kp(a+b+)	1,1
Kidd	Jk(a+b-)	22,2
	Jk(a-b+)	24,5
	Jk(a+b+)	53,3
Duffy	Fy(a+b-)	22,0
	Fy(a-b+)	27,5
	Fy(a+b+)	50,5
MNS	M+N-S+s-	6,7
	M+N-S+s+	13,2
	M+N-S-s+	11,3
	M+N+S+s-	6,4
	M+N+S+s+	20,2
	M+N+S-s+	22,9
	M-N+S+s-	0,6
	M-N+S+s+	4,6
	M-N+S-s+	14,1
Lewis	Le(a+b-)	7,7
	Le(a-b+)	87,9
	Le(a+b+)	0
	Le(a-b-)	4,4
Lutheran	Lu(a+b-)	0
	Lu(a-b+)	90,2
	Lu(a+b+)	9,8
P1PK	P1+	67,0
	P1-	33,0

В 2018 – 2020 гг. подбор доноров в регистре был использован при проведении гемокомпонентной терапии 37 пациентам гематологической клиники ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России. Показаниями для подбора доноров были:

- специфические антитела: анти-M (4 пациента), анти-Jk^a (1), анти-Le^a (1),

анти-P1 (1);

- полиспецифические/ неидентифицированные антитела (6);

- назначение лекарственных препаратов на основе моноклональных антител к CD38 (24).

Всем пациентам, нуждающимся в трансфузиях, в регистре найдены совместимые доноры (от 3 до 32 доноров - медиана 18). Переливания эритроцитов от подобранных доноров были эффективны и не сопровождалась ПТО.

Заключение. Таким образом, в целях повышения безопасности и эффективности гемокомпонентной терапии в учреждениях службы крови РФ целесообразно создавать регистры доноров, типированных по антигенам систем MNS, Duffy, Kidd, P1PK, Lewis, Lutheran.

Список литературы:

1. A Conceptual Framework for Optimizing Blood Matching Strategies: Balancing Patient Complications Against Total Costs Incurred / J.H.J. Van Sambeek, P.D.de Wit, J. Luken et al. // Front. Med. (Lausanne). – 2018. – Vol. 5. – P. 199.
2. Casas J., Friedman D. F., Jackson T. et al. Changing practice: red blood cell typing by molecular methods for patients with sickle cell disease // Transfusion. – 2015. - № 55(6). - P. 1388-1393.
3. Guidelines on red cell transfusion in sickle cell disease Part II: indications for transfusion / B.A. Davis, S. Allard, A. Qureshi [et al.] // Br. J. Haematol. – 2017. – Vol. 176. – P.192-209.
4. Murphy M., Roberts D., Yazer M. Practical Transfusion Medicine, 5th ed. Oxford, UK: Wiley-Blackwell; 2017.
5. Red blood cell alloimmunization in transfused patients with myelodysplastic syndrome or chronic myelomonocytic leukemia / C.Sanz, M. Nomdedeu, M. Belkaid [et al.] // Transfusion. – 2013. – Vol. 53. – P. 710-715.
6. Shaz B. H., Hillyer C. D., Reyes G. M. Transfusion Medicine and Hemostasis: Clinical and Laboratory Aspects, 3rd ed. - Philadelphia, PA: Elsevier; 2018.

**СООТНОШЕНИЕ ТИТРА И МЕЖДУНАРОДНЫХ ЕДИНИЦ
СОДЕРЖАНИЯ АНТИРЕЗУС RH₀(D) АНТИТЕЛ IGG В ДОНОРСКОЙ
ПЛАЗМЕ**

Вильданова Наталия Сергеевна

младший научный сотрудник лаборатории препаратов крови Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: vildanova@niigpk.ru

Попонина Елена Александровна

кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории иммуногематологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: poponina@niigpk.ru

Йовдий Анна Васильевна

кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории иммуногематологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: yovdiy@niigpk.ru

Воробьев Константин Анатольевич

доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: vorobiev@niigpk.ru

CORRELATION OF TITER AND INTERNATIONAL UNITS OF ANTI-D ANTIBODIES IN DONOR PLASMA

Nataliya Vildanova

junior Researcher of Blood products laboratory of the Federal State Budget Institution of Science «Kirov Scientific-Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of Federal Medical-Biological Agency», Russia, Kirov
E-mail: vildanova@niigpk.ru

Elena Poponina

PhD, Researcher of laboratory of Immunohematology of the Federal State Budget Institution of Science «Kirov Scientific-Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of Federal Medical-Biological Agency», Russia, Kirov
E-mail: poponina@niigpk.ru

Anna Yovdiy

PhD Researcher of laboratory of Immunohematology of the Federal State Budget Institution of Science «Kirov Scientific-Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of Federal Medical-Biological Agency», Russia, Kirov
E-mail: yovdiy@niigpk.ru

Konstantin Vorobiev

Doctor of Biology, Deputy Director for research of the Federal State Budget Institution of Science «Kirov Scientific-Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of Federal Medical-Biological Agency», Russia, Kirov
E-mail: vorobiev@niigpk.ru

Аннотация.

Цель. Установить связь между содержанием антирезус Rh₀(D) антител IgG, выраженном в титрах и международных единицах (МЕ), в антирезусной плазме крови доноров. Метод. Непрямая агглютинация в геле. Результат. Для значений титров от 1:4 до 1:4096 определены соответствующие диапазоны количества антирезус Rh₀(D) антител IgG в МЕ/мл. Выводы. Полученное соотношение позволит стандартизовать результаты определения антирезусных антител в донорской плазме.

Abstract.

Background. Establish a relationship between the content of anti-D antibodies, expressed in titers and international units (IU), in the blood plasma of donors. **Methods.** Indirect agglutination in a gel. **Result.** For titer values from 1:4 to 1:4096, the corresponding ranges of the amount of anti-D antibodies in IU/ml were determined. **Conclusion.** The resulting ratio will make it possible to standardize the results of the determination of anti-D antibodies in donor plasma.

Ключевые слова: донорская плазма; антирезус Rh₀(D) антитела IgG; непрямая агглютинация в геле; титр; международные единицы.

Keywords: donor plasma; anti-D antibodies; indirect agglutination; titer; international units.

Сырьем для получения антирезусного иммуноглобулина человека (АИГч) является донорская плазма крови, обогащенная антирезус Rh₀(D) антителами в результате иммунизации резус-отрицательных лиц D-антигеном. Плазму для производства препарата отбирают по титру антител по данным реакции непрямой агглютинации. В то же время лечебные дозы препарата рассчитывают, исходя из положения, что 1 мл резус-положительной крови нейтрализуется приблизительно 10 мкг (50 МЕ) АИГч [1, с.1]. Связь между двумя способами выражения содержания антирезусных антител IgG (титр и концентрация в МЕ) до настоящего времени не установлена.

Цель работы – определение соотношения между содержанием антирезус Rho(D) антител IgG, выраженным в титрах и МЕ.

Материал и метод. Исследованы образцы плазмы крови 22 женщин, имеющих резус-конфликтную беременность в анамнезе, с титром анти-D антител от 1:4 до 1:4096. Количество антирезусных антител IgG в МЕ/мл определяли по отношению к международному стандартному образцу (NIBSC 01/572). Реакцию непрямой агглютинации в геле проводили с использованием стандартной суспензии эритроцитов, гелевых карт и комплекта оборудования фирмы BioRad Laboratories.

Статистическую обработку данных осуществляли с применением программы STATISTICA 12.0 (Statsoft Inc.). Результаты приводили в виде медианы Me, верхнего и нижнего квартилей [Q25% – Q75%].

Результаты. Содержание антирезусных антител в образцах плазмы крови варьировало от 0,095 до 28,50 МЕ/мл. Среднее значение составило 2,85 [0,32 – 3,09] МЕ/мл. Полученные результаты сопоставили с данными определения титра анти-D антител, что позволило установить эмпирическое соотношение между указанными способами выражения содержания антител (таблица 1).

Таблица 1. Соотношение титра антирезус Rh₀(D) антител и их содержания в международных единицах

Титр антирезус Rho(D) антител	Содержание антирезусных антител, МЕ/мл
Менее 1:4	Менее 0,095
1:4	от 0,095 до 0,14
1:8	от 0,14 до 0,21
1:16	от 0,21 до 0,32
1:32	от 0,32 до 0,56
1:64	от 0,563 до 1,27
1:128	от 1,27 до 2,85
1:256	от 2,80 до 4,28
1:512	от 4,28 до 8,47
1:1024	от 8,47 до 12,67
1:2048	от 12,67 до 28,50
1:4096 и более	28,50 и более

Вывод. Установлено соотношение между содержанием антирезус Rho(D) антител IgG, выраженным в титрах и МЕ. При определении титра антирезус Rho(D) антител их содержание соответствует 28,50 и более МЕ/мл. Полученные данные необходимы для стандартизации результатов определения антирезусных антител в донорской плазме.

Список литературы:

1. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения ГиперРОУ® С/Д (иммуноглобулин человека антирезус Rh₀(D)).

**ВЫЯВЛЕНИЕ МАРКЕРОВ ГЕМОТРАНСМИССИВНЫХ ИНФЕКЦИЙ
НА ФГБУЗ СТАНЦИИ ПЕРЕЛИВАНИЯ КРОВИ ФМБА РОССИИ**

Г. РОСТОВ-НА-ДОНУ

Дегтярева Наталья Викторовна

заведующий клинико-диагностической лабораторией

Федерального государственного бюджетного учреждения здравоохранения

«Станция переливания крови Федерального медико-биологического агентства в

г. Ростов-на-Дону»

E-mail: degtyareva_natalia@mail.ru

Комлев Александр Владимирович

и.о. главного врача Федерального государственного бюджетного

учреждения здравоохранения «Станция переливания крови Федерального

медико-биологического агентства в г. Ростов-на-Дону»

E-mail: spk_61@fmbamail.ru

Дмитриева Ольга Игоревна

заведующий отделом, руководитель территориального центра

службы крови Федерального государственного бюджетного

учреждения здравоохранения «Станция переливания крови Федерального

медико-биологического агентства в г. Ростов-на-Дону»

E-mail: dmitrieva-spk@mail.ru

**IDENTIFICATION OF MARKERS OF BLOOD-BORNE INFECTIONS
AT THE BLOOD TRANSFUSION STATION OF THE FMBA OF RUSSIA,
ROSTOV-ON-DON**

Natalia Degtyareva

Head of the Clinical and diagnostic Laboratory Federal State Budgetary Healthcare

Institution “ Blood Transfusion Station of the Federal Medical and Biological Agency

in Rostov-on-Don»

E-mail: degtyareva_natalia@mail.ru

Alexander Komlev

Acting Chief Physician of the Federal State Budgetary Health Care Institution “

Blood Transfusion Station of the Federal Medical and Biological Agency in Rostov-

on-Don»

E-mail: spk_61@fmbamail.ru

Olga Dmitrieva

*Head of the Department, Head of the territorial center of the blood Service of the
Federal State Budgetary Health Institution “ Blood Transfusion Station of the
Federal Medical and Biological Agency in Rostov-on-Don»*

E-mail: dmitrieva-spk@mail.ru

Аннотация.

Цель. Проанализировать деятельность ФГБУЗ СПК ФМБА России г. Ростов-на-Дону по выявлению маркеров гемотрансмиссивных инфекций у доноров крови и ее компонентов за период с 2010 по 2020 годы. Метод. В работе применяли автоматические анализаторы и ручные методики с использованием спектрофотометров. Результаты. Показано, что частота выявления маркеров гемотрансмиссивных инфекций в 4,58 раз выше среди первичных доноров по сравнению с повторными. Отмечена устойчивая тенденция к снижению частоты обнаружения маркеров гемотрансмиссивных инфекций у доноров. В структуре брака по выявлению инфекций, передаваемых с кровью, наибольшее число отводов связано с гепатитом С.

Abstracts.

The aim. To analyze the activities of the Federal State Budgetary Institution of the SPK of the FMBA of Russia in Rostov-on-Don to identify markers of hemotransmissible infections in blood donors and its components for the period from 2010 to 2020. Method. Automatic analyzers and manual techniques using spectrophotometers were used in the work. Results. It was shown that the frequency of detection of markers of hemotransmissible infections is 4.58 times higher among primary donors compared to repeated donors. There is a steady trend towards a decrease in the frequency of detection of markers of hemotransmissible infections in donors. In the structure of the marriage for the detection of blood-borne infections, the largest number of taps is associated with hepatitis C.

Ключевые слова: первичные и повторные доноры крови и ее компонентов; маркеры гемотрансмиссивных инфекций.

Keywords: primary and repeated donors of blood and its components; markers of hemotransmissible infections.

Потребность лечебных учреждений здравоохранения Ростовской области в компонентах и препаратах крови с каждым годом увеличивается. Востребованность в гемокомпонентах занимает значимое место среди средств оказания медицинской помощи при чрезвычайных ситуациях и массовых поражениях населения. При медицинском обследовании доноров важная роль отводится выявлению гемотрансмиссивных инфекций. На территории Ростовской области пораженность населения ВИЧ-инфекцией в 2020 году составила 0,25%, против 0,21% в 2017. Неблагополучная ситуация в 2016 году сложилась по заболеваемости вирусным гепатитом В (ВГВ), однако после реализации мероприятий, направленных на его профилактику, в том числе вакцинации, с 2017 года этот показатель начал снижаться. В последнее время на передний план вышла статистика по вирусному гепатиту С (ВГС). В связи с остающимся риском передачи гемотрансмиссивных инфекций при гемотрансфузиях постоянно совершенствуется качество лабораторных исследований крови доноров на наличие инфекционных маркеров. Кровь доноров подлежит обязательному исследованию на наличие антител к вирусу иммунодефицита человека и антигена р24 вируса, поверхностного антигена вирусного гепатита В, антител к вирусу гепатита С, суммарных антител к возбудителю сифилиса. Выявление наличия названных инфекционных маркеров в донорской крови служит последним барьером на пути вируса в организм реципиента.

Цель работы. Проанализировать частоту выявления инфекционных маркеров среди различных категорий доноров крови и ее компонентов ФГБУЗ СПК ФМБА России в г. Ростов-на-Дону с 2010 по 2020 гг.

Материалы и методы. В исследование включено 56124 образца сыворотки крови, полученных в период с 2010 по 2020 гг., от доноров ФГБУЗ СПК ФМБА России в г. Ростов-на-Дону (таблица 1). Из них 6071 образец взят у первичных доноров, 50053 – у повторных. Для выявления маркеров вирусов иммунодефицита человека 1 и 2 типов, гепатитов В и С, сифилиса использовали реагенты производства фирмы «Bio-Rad»; ЗАО «Вектор-Бест»; «Abbott»; «Roche»; «ЗАО «Эколаб». ИФА-диагностику осуществляли на автоматическом приборе Evolis, а

также с помощью «ручных» методик на спектрофотометре «Тесан» в период до 2015 года. ИХЛА проводили на приборах Cobas e 411, Architect i1000.

Результаты. За исследуемый период наблюдалось значительное снижение частоты выявления маркеров гемотрансмиссивных инфекций в образцах крови доноров и ее компонентов. По данным нашего исследования первое место в структуре абсолютного брака доноров компонентов донорской крови по инфекциям занимает гепатит С. За период с 2010 – 2020 гг. зафиксировано 240 случаев отведения доноров по абсолютному браку, из них: 102 – ВГС; 96 – сифилис, 35 – ВГВ; 7 – ВИЧ-инфекции. Динамика частоты отводов представлена в таблице 1.

Таблица 1. Динамика частоты отводов доноров

Годы	Количество обследованных образцов	Частота отводов							
		Анти ВИЧ-1,2		ВГВ		ВГС		сифилис	
		абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
2010	4814	-	-	7	0,14	23	0,47	27	0,56
2011	4821	-	-	3	0,06	15	0,31	11	0,23
2012	5073	-	-	10	0,19	7	0,14	16	0,31
2013	5294	1	0,02	7	0,13	18	0,34	19	0,36
2014	5107	2	0,04	1	0,0	8	0,15	8	0,15
2015	4823	-	-	3	0,06	11	0,23	2	0,04
2016	4037	-	-	1	0,02	8	0,20	1	0,02
2017	5921	3	0,05	1	0,02	5	0,08	4	0,07
2018	5339	-	-	-	-	1	0,02	1	0,02
2019	5064	-	-	2	0,04	4	0,08	3	0,06
2020	5831	1	0,02	-	-	2	0,03	4	0,07
Всего	56124	7	0,01	35	0,06	102	0,18	96	0,17

Как видно из данных таблицы 1, отмечена тенденция к снижению выявления положительных образцов ВГВ (HBsAg) с 0,14% до 0,04%; ВГС (анти-ВГС) с 0,47% до 0,03%; антитела к возбудителю сифилиса с 0,56% до 0,07%. Выявляемость, вызванная вирусом иммунодефицита человека ВИЧ, осталась на прежнем уровне - 0,02%.

Частота выявления маркеров гемотрансмиссивных инфекций в целом

оказалась в 4,58 раз выше среди первичных доноров по сравнению с повторными. Анализ средней величины данного показателя за 11 лет относительно исследуемых маркеров показал следующие результаты: частота выявления антител к ВГС составила у первичных доноров – 1,27%, у повторных – 0,05%; антител к HBsAg – 0,49% и 0,01% соответственно; антител к ВИЧ – 0,10% и 0,002%; антител к сифилису – 1,38% и 0,02% соответственно.

При этом следует отметить, что общее число медицинских отводов от донорства вследствие выявления маркеров у повторных доноров в динамике снижалось.

Проведен гендерный анализ выявления маркеров гемотрансмиссивных инфекций. В целом у мужчин этот показатель почти в 3 раза превысил таковой у женщин. Обращает на себя внимание тот факт, что по частоте наличия маркеров всех исследуемых вирусных инфекций показатель у мужчин превышал таковой у женщин в 2 – 2,5 раза, за исключением распространенности ВГС (у мужчин в 5,4 раза чаще, чем у женщин).

Заключение. За последние 11 лет в ФГБУЗ СПК ФМБА России в г. Ростов-на-Дону наблюдается устойчивая тенденция к снижению частоты обнаружения маркеров гемотрансмиссивных инфекций у доноров крови и ее компонентов, при этом доля забракованных составила 0,42%. В структуре абсолютного брака преобладает выявление гепатита С (0,18%) и сифилиса (0,17%). Наблюдаемое понижение частоты выявления маркеров вирусных инфекций у доноров может быть связано со снижением заболеваемости населения, реализацией стратегии развития безвозмездного донорства, а также качественная работа сотрудников учреждения по оценке факторов риска и преимущественной заготовке компонентов крови от повторных доноров.

Список литературы:

1. Приказ Минздрава от 28.10.2020 № 1166н «Об утверждении порядка прохождения донорами медицинского обследования и перечень медицинских противопоказаний (временных и постоянных) для сдачи крови и (или) ее компонентов и сроков отвода, которому подлежит лицо при наличии временных медицинских показаний, от донорства крови и (или) ее

компонентов».

2. Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Ростовской области/ Всемирный день борьбы с синдромом приобретенного иммунодефицита http://61.rospotrebnadzor.ru/index.php?option=com_content&view=article&id=10319:1&catid=80:2009-12-25-16-26-24&Itemid=79.

3. Белякова В. В., Рагимов А. А. Опыт работы по выявлению маркеров гемотрансмиссивных инфекций в России и за рубежом // Вестник службы крови России, 2012. №3. С. 59-62.

4. Третьякова А.Ю., Барышев Б.А. О некоторых проблемах обеспечения инфекционной безопасности продуктов донорской крови// Трансфузиология, 2014. Т.15, №1. С.62-64.

УДК: 577.352: 576.32/.36: 57.086.13

МЕХАНИЧЕСКАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ И РЕГУЛЯЦИЯ АСИММЕТРИИ МЕМБРАН ПРИ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИИ С ГЛИЦЕРИНОМ

Землянских Нина Григорьевна

канд. биол. наук, с.н.с. отдела криоцитологии

Института проблем криобиологии и криомедицины

Национальной Академии Наук Украины, Украина, г. Харьков

E-mail: nzemliansky@gmail.com

Бабийчук Любовь Александровна

докт. биол. наук, профессор, зав. отделом криоцитологии

Института проблем криобиологии и криомедицины

Национальной Академии Наук Украины, Украина, г. Харьков

E-mail: BabijchukLA@gmail.com

MECHANICAL STABILITY OF ERYTHROCYTES AND REGULATION OF MEMBRANE ASYMMETRY UPON CRYOPRESERVATION WITH GLYCEROL

Nina Zemlianskykh

*cand. biol. sciences, senior researcher Department of Cryocytology,
Institute of Problems of Cryobiology and Cryomedicine,
National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, Kharkiv
E-mail: nzemliansky@gmail.com*

Lyubov Babychuk

*doct. biol. sciences, professor, head. Department of Cryocytology,
Institute of Problems of Cryobiology and Cryomedicine,
National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, Kharkiv
E-mail: BabijchukLA@gmail.com*

Аннотация.

Механическая устойчивость эритроцитов, криоконсервированных с глицерином, и нарушение асимметрии мембранных липидов исследованы после удаления криопротектора. Показано, что стабильность эритроцитов при механическом стрессе уменьшается по сравнению с контролем. Однако оценка экстернализации фосфатидилсерина в мембране методом проточной цитометрии не выявила нарушений распределения липидов в мембране. Следовательно, эритроциты, криоконсервированные с глицерином, сохраняют асимметрию липидов, что позволяет им функционировать в русле крови, несмотря на ослабление механической стабильности клеток.

Abstract.

The mechanical stability of erythrocytes cryopreserved with glycerol and disturbances of membrane lipid asymmetry were examined after the cryoprotectant removal. The erythrocyte stability under mechanical stress was shown to decrease in comparison with the control. However, the assessment of phosphatidylserine externalization by the flow cytometry did not reveal any disturbances in the membrane lipid distribution. Consequently, erythrocytes cryopreserved with glycerol retain lipid asymmetry that allows them functioning in the bloodstream, despite a decrease in the mechanical cell stability.

Ключевые слова: эритроцит; мембрана; фосфатидилсерин; механическая устойчивость; криоконсервирование.

Keywords: erythrocyte; membrane; phosphatidylserine; mechanical stability; cryo-preservation

Для криоконсервирования эритроцитов используют глицерин, который гарантирует высокий уровень жизнеспособности клеток после удаления криопротектора. Исследование механизма влияния глицерина на клетки в процессе замораживания - отогрева и последующего удаления криопротектора может послужить ориентиром при совершенствовании методов долгосрочного хранения крови и разработке новых технологий криоконсервирования. Одним из важных аспектов исследования может быть оценка механической устойчивости криоконсервированных эритроцитов, поскольку в физиологических условиях при прохождении через капилляры клетки подвергаются механическому стрессу. Второй аспект оценки функциональной стабильности эритроцитов связан с поддержанием асимметричного распределения липидов в мембранном бислое в связи с тем, что появление на поверхности клеток фосфатидилсерина (ФС), локализованного в норме только на внутренней стороне мембраны, приводит к активации макрофагов и элиминации из русла крови клеток с нарушениями распределения липидов.

Эритроциты исследовали после замораживания-отогрева в жидком азоте под защитой 30% раствора глицерина. После отогрева и удаления криопротектора оценивали механическую устойчивость клеток в соответствии с описанием в работе [1, с. 67] и определяли количество клеток с экстернализованным ФС по методу, описанному ранее [2, с. 287].

Анализ механической устойчивости эритроцитов показал снижение показателей после замораживания-отогрева в присутствии глицерина. Но после удаления криопротектора сопутствующей потерей поврежденных клеток уровень механической стабильности клеток приближался к контрольным значениям, тем не менее не достигая данного уровня. Данный факт может свидетельствовать об отсутствии серьезных нарушений свойств мембрано-цитоскелетного комплекса эритроцитов, что позволяет таким клеткам функционировать в русле крови, хотя срок их жизни может быть снижен. Кроме того, эритроциты, замороженные под

защитой глицерина, после удаления криопротектора способны поддерживать регуляцию асимметричного распределения липидов в мембране на уровне контроля, что указывает на их функциональную полноценность.

Список литературы:

1. Zemlianskykh N.G. The Effects of cryoprotective substances on the mechanical stability and geometric parameters of human erythrocytes // Biophysics, 2018. V.63. No.1. P. 66–76.
2. Zemlianskykh N.G. Regulation of the asymmetric distribution of lipids in human erythrocyte membrane in the presence of glycerol and polyethylene glycol // Cell and Tissue Biology, 2020. V.14. No.4. P. 286–293.

УДК: 615.38.082:612.111:612.111.7.

КАЧЕСТВО КОМПОНЕНТОВ ПРИ ОДНОВРЕМЕННОЙ ЗАГОТОВКЕ ЭРИТРОЦИТОВ И ТРОМБОЦИТОВ МЕТОДОМ АФЕРЕЗА У ДОНОРОВ

Киселева Елена Анатольевна

заведующая отделением переливания крови

Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии

Федерального медико-биологического агентства», РФ, Санкт-Петербург

E-mail: bloodscience@mail.ru

Касьянов Андрей Дмитриевич

канд. мед наук руководитель группы контроля качества и безопасности

гемотрансфузионных средств

Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии

Федерального медико-биологического агентства», РФ, Санкт-Петербург

E-mail: bloodscience@mail.ru

Данильченко Владимир Васильевич
докт. мед. наук., профессор,
руководитель организационно-методического отдела
Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научно-
исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства», РФ, Санкт-Петербург
E-mail: bloodscience@mail.ru

**THE QUALITY OF COMPONENTS IN THE SIMULTANEOUS
PREPARATION OF RED BLOOD CELLS AND PLATELETS BY
APHERESIS IN DONORS**

Elena Kiseleva
Head of the Blood Transfusion Department
Federal State Budgetary Institution “ Russian Research Institute of Hematology and
Transfusiology
Federal Medical and Biological Agency”, Russia, Saint Petersburg
E-mail: bloodscience@mail.ru

Andrey Kasyanov
kand. doctor of Sciences Head of the group for quality control and safety of blood
transfusion products
Federal State Budgetary Institution “Russian Research Institute of Hematology and
Transfusiology
Federal Medical and Biological Agency”, Russia, Saint Petersburg
E-mail: bloodscience@mail.ru

Vladimir Danilchenko
Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Organizational and
Methodological Department
Federal State Budgetary Institution “Russian Research Institute of Hematology and
Transfusiology
Federal Medical and Biological Agency”, Russia, Saint Petersburg
E-mail: bloodscience@mail.ru

Аннотация.

Целью работы явилось изучение качества концентрата тромбоцитов (КТ) и эритроцитной взвеси (ЭВ) при одновременной эксфузии терапевтической дозы тромбоцитов и эритроцитов автоматическим аферезом с использованием сепараторов клеток крови. Разработана методика одновременной заготовки терапевтической дозы тромбоцитов и эритроцитов методом афереза у доноров. Сочетанное получение двух компонентов крови от одного донора методом афереза не снижает качества концентрата тромбоцитов и эритроцитной взвеси и соответствует требованиям национальных и международных стандартов.

Abstract.

The aim of the work was to study the quality of platelet concentrate (CT) and erythrocyte suspension (EV) during simultaneous exfusion of the therapeutic dose of platelets and red blood cells by automatic apheresis using blood cell separators. A method of simultaneous preparation of a therapeutic dose of platelets and red blood cells by the method of apheresis in donors has been developed. The combined production of two blood components from one donor by apheresis does not reduce the quality of platelet concentrate and erythrocyte suspension and meets the requirements of national and international standards.

Ключевые слова: сочетанное донорство; контроль качества; метод афереза; концентрат тромбоцитов; эритроцитная взвесь.

Keywords: combined donation; quality control; apheresis method; platelet concentrate; erythrocyte suspension.

Внедрение метода афереза в производственную деятельность учреждений службы крови стало условием рационального использования донорского потенциала и повышения эффективности управления запасами крови. Перспективным является развитие «мультикомпонентного афереза» – получение от одного донора двух и более одинаковых или различных компонентов крови за одну процедуру.

Цель работы – изучить качество концентрата тромбоцитов и эритроцитной

взвеси при одновременной эксфузии терапевтической дозы тромбоцитов и эритроцитов автоматическим аферезом с использованием сепараторов клеток крови.

Объектами исследования являлись концентраты тромбоцитов и эритроцитная взвесь, полученные методом афереза у регулярных доноров (мужчин) с использованием аппаратов для цитафереза Haemonetics MCS+.

В результате проведенного исследования разработана методика одновременной заготовки терапевтической дозы тромбоцитов и эритроцитов методом афереза у доноров.

Проведена сравнительная оценка качества концентратов тромбоцитов и эритроцитной взвеси, полученных методом афереза, при сочетанном донорстве и показателей гемокомпонентов, заготовленных другими способами - КТ, полученные при однокомпонентном донорстве, ЭВ, заготовленные из дозы крови.

Установлено, что при объеме 193 – 304 мл КТ, полученных методом сочетанного афереза, содержалось $270 - 370 \times 10^9$ тромбоцитов, остаточное содержание лейкоцитов $0,07 - 0,74 \times 10^6$, уровень рН 7,3 – 7,55. КТ, полученный методом афереза при однокомпонентном донорстве, имел объем 200-300 мл, содержал тромбоцитов $300-360 \times 10^9$ в дозе, содержание лейкоцитов $0,07 - 0,65 \times 10^6$, уровень рН 7,21 – 7,40.

Все полученные КТ имели объем, соответствующий требованиям российских стандартов (не менее 40 мл на 60×10^9 тромбоцитов), и содержали надлежащее количество тромбоцитов в контейнере с аферезными КТ – не менее $2,0 \times 10^{11}$ клеток.

ЭВ, полученные методом сочетанного донорства, имели следующие показатели: гемоглобин 42,7 – 53,5 г / ед., гематокрит 0,54 – 0,61 л / л, остаточное содержание лейкоцитов $0,09 - 0,59 \times 10^6$ / ед., гемолиз 0,05 – 0,70 % в конце срока годности. Показатели ЭВ, заготовленных из дозы крови, характеризовались следующими параметрами: гемоглобин 45,9 – 65,6 г / ед., гематокрит 0,47 – 0,61 л / л, остаточное содержание лейкоцитов $0,05 - 0,60 \times 10^6$ / ед., гемолиз 0,12 – 0,70 % в конце срока годности.

Характеристика критериев качества в ЭВ, заготовленных различными

методами, соответствовала требованиям национального стандарта и значимо не отличалась, за исключением гемолиза в конце срока годности ($p < 0,05$).

В результате проведенного исследования установлено, что сочетанное получение двух компонентов крови от одного донора методом афереза не снижает качества концентрата тромбоцитов и эритроцитарной взвеси и соответствует требованиям национальных и международных стандартов.

Список литературы:

1. Чечеткин А.В. Служба крови Российской Федерации в 2014 году: итоги деятельности / А.В. Чечеткин, В.В. Данильченко, М.Ш. Григорьян, Л.Г. Воробей и др. // Трансфузиология, 2015. Т.16, № 3. С. 4-13.
2. Чемоданов И.Г. Мультикомпонентное донорство / И.Г. Чемоданов, М.Н. Губанова, Р.Ф. Аюпова, Е.Б. Жибурт // Таврический медико-биологический вестник, 2017. Т.20, №1. С. 154-159.
3. Правила заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов. Утверждены постановлением Правительства Российской Федерации № 797 от 22 июня 2019 г. [Электронный ресурс]. – URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_328029/
4. Мадзаев С.Р. Новое в трансфузиологии (на конгрессе Международного общества переливания крови в Сеуле) / С.Р. Мадзаев, Е.Б. Жибурт, У.С. Султанбаев, Ж.К. Буркитбаев и др // Эффективная фармакотерапия, 2015. № 12. С. 8-16.
5. Doescher A. Non-invasive pH monitoring of platelet concentrates / A. Doescher, C. Vogt, E.K. Petershofen et al. // Vox Sang., 2013. Vol. 105, Suppl. 1. P.84.
6. Касьянов А.Д. Анализ соответствия гематологических методов исследования при контроле качества эритроцитосодержащих компонентов крови / А.Д. Касьянов, А.В. Чечеткин, И.С. Голованова и др. // Трансфузиология, 2019. Т. 20, № 2. приложение 1. С. 37-38.
7. Руководство по приготовлению, использованию и обеспечению качества компонентов крови, Европейский комитет (частичное соглашение) по переливанию крови (CD-P-TS), 17-е издание, 2013. С. 135, 137, 330.

**АНАЛИЗ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ
ИММУНОГЛОБУЛИНА ЧЕЛОВЕКА ПРОТИВ КЛЕЩЕВОГО
ЭНЦЕФАЛИТА**

Кормищикова Елена Сергеевна

*младший научный сотрудник лаборатории препаратов крови Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: Kormschikova@niigpk.ru*

Воробьев Константин Анатольевич

*доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: Vorobiev@niigpk.ru*

Парамонов Игорь Владимирович

*доктор медицинских наук, директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: Paramonov@niigpk.ru*

Кудашева Эльвира Юрьевна

*кандидат медицинских наук, начальник лаборатории иммуноглобулинов и препаратов крови Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, РФ, г. Москва
E-mail: Kudasheva@expmed.ru*

ANALYSIS OF THE POTENCY OF HUMAN TBEV-IMMUNOGLOBULIN

Elena Kormshchikova

Junior Researcher of Blood products laboratory of the Federal State-Financed

*scientific institution Kirov research Institute of Hematology and Blood Transfusion
under the Federal Medical Biological Agency, Russia, Kirov
E-mail: Kormschikova@niigpk.ru*

Konstantin Vorobiev

*Doctor of Biology, Deputy Director for research of the Federal State-Financed
scientific institution Kirov research Institute of Hematology and Blood Transfusion
under the Federal Medical Biological Agency, Russia, Kirov
E-mail: Vorobiev@niigpk.ru*

Igor Paramonov

*Doctor of Medicine, Director of the Federal State-Financed scientific institution
Kirov research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal
Medical Biological Agency, Russia, Kirov
E-mail: Paramonov@niigpk.ru*

Elvira Kudasheva

*PhD, Head of the Laboratory of Immunoglobulins and Blood Products of the Federal
State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of medicinal
Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Russia, Moscow
E-mail: Kudasheva@expmed.ru*

Аннотация.

Цель. Провести анализ специфической активности иммуноглобулинов человека против клещевого энцефалита, произведенных с 2016 по 2020 гг. Метод. Реакция торможения гемагглютинации. Результат. Значения медианы содержания антител к вирусу клещевого энцефалита в препаратах разных производителей варьировали от 1:160 до 1:320. Вывод. Специфическая активность более, чем в два раза превышала минимально допустимое значение содержания антител и соответствовала требованию к иммуноглобулинам человека против клещевого энцефалита – не ниже 1:80.

Abstract.

Background. The potency of human TBEV-immunoglobulins retrospectively been analyzed. Methods. Hemagglutination inhibition. Result. The potency of human TBEV-immunoglobulins, produced from 2016 to 2020, averages from 1: 160 to 1: 320. Conclusion. The potency corresponds to requirement for preparations – not less than 1:80.

Ключевые слова: специфическая активность; препараты иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита.

Keywords: the potency; human TBEV-immunoglobulins.

Современные препараты иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита (КЭ) представляют собой концентрированные растворы очищенной фракции иммуноглобулинов G, выделенных из плазмы крови доноров, иммунизированных соответствующими вакцинами, и/или доноров-реконвалесцентов. Согласно требованиям нормативной документации для нейтрализации инфекционных свойств вируса КЭ специфическая активность препаратов должна быть не ниже титра 1:80, определенного в реакции торможения гемагглютинации (РТГА).

Цель – провести анализ специфической активности иммуноглобулинов человека против КЭ.

Материал и методы. Исследованы 70 серий препаратов, произведенных с 2016 по 2020 гг. в ФГУП НПО «Микроген» (группа 1, n = 20) и на станциях переливания крови ГБУЗ «Челябинской СПК» (группа 2, n = 28), ГАУЗ Свердловской области «ОСПК» (группа 3, n = 22). Содержание антител к вирусу КЭ в образцах каждой серии определяли в РТГА в соответствии с инструкцией по применению набора реагентов «Диагностикум клещевого энцефалита сухой для РТГА, РРГ, РСК» (ФГУП НПО «Микроген»).

Для статистического анализа использовали программы MS Excel (Microsoft Corp.), STATISTICA 12.0 (Statsoft Inc.). Результаты представляли в виде медианы (*Me*), интервала между минимальным и максимальным значениями [*Min* - *Max*], а также величины среднего геометрического титра антител (*Ge*). Выборки сравнивали с использованием *U*-критерия Манна – Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Содержание антител к вирусу КЭ в препаратах группы 1 составило 1:160 [1:160 - 1:320], группы 2 – 1:160 [1:160 - 1:320], группы 3 – 1:320 [1:160 - 1:640]. Выборкам соответствовали значения *Ge* титра – 1:190; 1:200; 1:307. Иммуноглобулины групп 1 и 2 не различались по величине специфической активности ($p = 0,65$). Титры антител в препаратах группы 3 были значимо выше

соответствующих значений в препаратах группы 1 ($p = 0,0007$) и группы 2 ($p = 0,0011$).

Вывод. Установлено, что специфическая активность иммуноглобулинов человека против клещевого энцефалита более, чем в два раза превышала минимально допустимое значение содержания антител и соответствовала требованию к препаратам рассматриваемой группы – не ниже 1:80.

УДК 615.45

ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ СТАНЦИЙ ПЕРЕЛИВАНИЙ КРОВИ - ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ПРЕПАРАТОВ КРОВИ

Тюриков Юрий Михайлович

к.м.н., главный внештатный трансфузиолог Ивановской области, директор областного бюджетного учреждения «Ивановская областная станция переливания крови», РФ, г. Иваново

E-mail: office.ivspk@bk.ru

Харук Алина Иосифовна

заместитель директора по медицинской части, врач трансфузиолог областного бюджетного учреждения «Ивановская областная станция переливания крови», РФ, г. Иваново

E-mail: zgv.ivspk@bk.ru

Соловьева Анна Евгеньевна

к.м.н., доцент, заведующий отдела организации медицинской помощи по профилю «трансфузиология» Областного бюджетного учреждения «Ивановская областная станция переливания крови», РФ, г. Иваново

E-mail: office.ivspk@bk.ru

ACTIVITY OF BLOOD TRANSFUSION STATIONS-PRODUCERS BLOOD PRODUCTS

Yuri Tyurikov

Candidate of Medical Sciences, Chief External Transfusiologist of the Ivanovo

*Region, Director of the Regional Budgetary Institution «Ivanovo Regional Blood Transfusion Station», Russia, Ivanovo
E-mail: office.ivspk@bk.ru*

Alina Kharuk

*Deputy Director for Medical Affairs, Transfusiologist regional budgetary institution
«Ivanovskaya regional blood transfusion station», Russia, Ivanovo
E-mail: zgv.ivspk@bk.ru*

Anna Solovieva

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of
Organization of Medical Aid on the Profile of «Transfusiology» of the Regional
Budgetary Institution «Ivanovskaya Regional Blood Transfusion Station», Russia,
Ivanovo
E-mail: office.ivspk@bk.ru*

Аннотация.

ОБУЗ «Ивановская областная станция переливания крови» (далее ОБУЗ «ИОСПК») является одним из крупнейших учреждений РФ по производству препаратов крови. В 1972 году в СССР успешно функционировало 15 корпусов фракционирования плазмы крови. В настоящее время осталось 3: Иваново, Самара, Челябинск. В век технического прогресса и развития информационных технологий проблема материально-технического оснащения производственных корпусов (далее ПК) особенно актуальна. Отечественное оборудование для ПК не производится, приобретение импортного требует огромных затрат не только финансовых, но и трудовых.

Abstract.

OBUZ «Ivanovskaya Regional Blood Transfusion Station» (OBUZ «IOSPK») is one of the largest institutions in the RF for the production of blood products. In 1972, 15 buildings for fractionation of blood plasma successfully functioned in the USSR. At present, there are 3 left: Ivanovo, Samara, Chelyabinsk. In the age of technological progress and development of information technologies, the problem of material and technical equipment of production buildings (next PB) is especially urgent. No domestic equipment for PB is produced, the purchase of imported ones requires huge costs not only financial, but also labor.

Ключевые слова: препараты крови; альбумин; иммуноглобулины.

Keywords: blood products; albumin; immunoglobulins.

История выпуска ОБУЗ «ИОСПК» препаратов крови

Альбумин 10%, раствор для инфузий Р N003367/01 от 17.09.2009, выпуск с 1972 г. Плазмозамещающий препарат. Поддерживает коллоидно-осмотическое (онкотическое) давление крови, увеличивает ОЦК, повышает АД. Способствует проникновению тканевой жидкости в кровяное русло. Является источником белка.

Применение: шок (травматический, операционный и токсический), ожоги, сопровождающиеся дегидратацией и сгущением крови, гипопроотеинемия и гипоальбуминемия, поражения ЖКТ с нарушением пищеварения (язвенная болезнь, опухоли, затруднения проходимости желудочно-кишечного анастомоза и др.). Потребность: высокая.

Альбумин, раствор для инфузий 20% ЛСР-001951/09 от 16.03.2009, выпуск с 2009 г. Альбумин человека составляет более половины белковой фракции крови человека и около 10% белка, синтезируемого печенью.

Альбумин человека с дозировкой 20% оказывает гиперонкотический эффект.

Самыми важными физиологическими функциями альбумина являются его вклад в онкотическое давление и транспортные функции. Альбумин стабилизирует объем циркулирующей крови и является транспортным белком, переносящим гормоны, ферменты, лекарственные препараты и токсины.

Применение: снижение содержания альбумина в плазме ниже 30 г/л, либо при снижении содержания общего белка ниже 50 г/л.

1. Гипоальбуминемии различного генеза.
2. Операции с использованием искусственного кровообращения.
3. Лечебный плазмаферез.
4. Гемолитическая болезнь новорождённых во время проведения обменного переливания крови.

5. Проведение предоперационной гемодилуции и заготовка компонентов аутокрови.

6. Отёк мозга.

Потребность: в сравнении с альбумином 10% значительно выше. План: увеличение объемов выпуска. Растворы Альбумина 10, 20% безопасны, доступны, эффективны.

Иммуноглобулин человека антирезус Rho(D), раствор для внутримышечного введения 300мкг/доза, РN003599/01 – 281009, выпуск с 1979 года. ОБУЗ «ИОСПК» является единственным производителем антирезусного иммуноглобулина.

Препарат представляет собой иммунологически активную белковую фракцию, выделенную из человеческой плазмы или сыворотки доноров, проверенных на отсутствие антител к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ-1, ВИЧ-2), вирусу гепатита С и поверхностного антигена вируса гепатита В. Активным компонентом препарата является иммуноглобулин G, содержащий неполные анти-Rho(D)-антитела. Препарат предотвращает резус-сенсibilизацию (образование анти-Rho(D)-антител) при беременности у резус-отрицательных женщин, родивших Rho(D)-положительных детей или перенесших искусственное прерывание беременности при Rho(D)-положительной принадлежности крови мужа. Доказана эффективность и безопасность.

Проблемы: отсутствует нормативная документация по иммунизации доноров с целью получения изоиммунной плазмы для производства антирезусного иммуноглобулина. Потребность: высокая. Планы: увеличение производства.

Иммуноглобулин человека антистафилококковый, раствор для внутримышечного введения 100 МЕ, ЛС-000388 – 180811, выпуск с 1981 года. Активным компонентом препарата являются иммуноглобулины, обладающие активностью антител к стафилококковому экзотоксину.

Применение: лечение заболеваний стафилококковой этиологии у детей и взрослых. Проблемы: отсутствует нормативная документация по иммунизации доноров с целью получения иммунной плазмы для производства антистафилококкового иммуноглобулина. Потребность: высокая.

Иммуноглобулин человека нормальный, раствор для внутримышечного введения ЛС-00373, выпуск с 1975 года.

Препарат представляет собой концентрированный раствор иммунологически активной белковой фракции, выделенной методом фракционирования этиловым спиртом при температуре ниже 0°С из плазмы крови здоровых доноров. Для изготовления серии иммуноглобулина используют плазму, полученную не менее, чем от 1000 здоровых доноров, индивидуально проверенных на отсутствие поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg), антител к вирусу гепатита С и вирусам иммунодефицита человека ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Действующим началом являются иммуноглобулины, обладающие активностью антител различной специфичности.

Габриглобин®-IgG, раствор для инфузий выпускается с 2001 г. ОБУЗ «ИОСПК» является производственной площадкой ООО «Иммуно-Гем».

Заключение

С целью увеличения объемов выпуска и обеспечения населения Российской Федерации препаратами крови необходимы: модернизация производственных корпусов учреждений службы крови; создание приказа, регламентирующего штатное расписание и оснащение производственных подразделений учреждений службы крови.

УДК 612.111.7.004.4:615.451.13

НОВЫЙ ДОБАВОЧНЫЙ РАСТВОР ДЛЯ ХРАНЕНИЯ КОНЦЕНТРАТА ТРОМБОЦИТОВ

Чечеткин Александр Викторович

д.мед.н., профессор, зам. директора по развитию международной деятельности Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства России», РФ, г. Санкт-Петербург

E-mail: bloodscience@mail.ru

Алексеева Наталия Николаевна

*к.биол.н., ведущий научный сотрудник лаб. кровезаменителей
Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский*

*НИИ гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического
агентства России», РФ, г. Санкт-Петербург
E-mail: labprep@mail.ru*

Старицына Наталья Николаевна

*к.биол.н., старший научный сотрудник лаб. кровезаменителей
Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский
НИИ гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического
агентства России», РФ, г. Санкт-Петербург
E-mail: labprep@mail.ru*

NEW ADDITIONAL SOLUTION FOR STORAGE OF PLATELET CONCENTRATE

Alexander Chechetkin

*Doctor of Medicine, Professor, Deputy Director for the Development of International
Activities of the Federal State Budgetary Institution “Russian Research Institute of
Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and Biological Agency of
Russia”, Russia, Saint-Petersburg
E-mail: bloodscience@mail.ru*

Nataliya Alekseeva

*Candidate of Biological Sciences, Federal State Budgetary Institution “Russian
Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and
Biological Agency of Russia”, Russia, Saint-Petersburg
E-mail: labprep@mail.ru*

Natalya Staritsyna

*Candidate of Biological Sciences, Federal State Budgetary Institution “Russian
Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and
Biological Agency of Russia”, Russia, Saint-Petersburg
E-mail: labprep@mail.ru*

Аннотация.

Целью исследования являлась разработка состава отечественного добавочного раствора для хранения концентрата тромбоцитов и оценка его эффективности. Используются биохимические, гематологические и коагулологические методы исследования. В композицию нового добавочного раствора включен один из субстратов цикла Кребса – фумарат натрия. Установлено, что фумаратсодержащий раствор более эффективно поддерживает метаболическое и функциональное состояние тромбоцитов, повышает их жизнеспособность по сравнению с действием коммерческого раствора SSP+. Новый добавочный раствор позволяет увеличить срок хранения концентрата тромбоцитов до 7-9 суток вместо 5-7 суток при хранении клеток в растворе SSP+.

Abstract.

The aim of the study was to develop the composition of a domestic additive solution for storing platelet concentrate and to evaluate its effectiveness. Biochemical, hematological, and coagulological methods were used. The composition of the new additive solution includes one of the substrates of the Krebs cycle – sodium fumarate. It was found that the fumarate containing solution more effectively supports the metabolic and functional state of platelets, increases their viability compared to the action of a commercial SSP + solution. The new additional solution allows to increase the shelf life of platelet concentrate to 7-9 days instead of 5-7 days when storing cells in SSP+ solution.

Ключевые слова: концентрат тромбоцитов; добавочный раствор; хранение тромбоцитов; фумарат; глюкоза; лактат.

Keywords: platelet concentrate; additive solution; platelet storage; fumarate; glucose; lactate.

К числу наиболее востребованных компонентов крови относится концентрат тромбоцитов (КТ), переливание которого является необходимой мерой коррекции тромбоцитопении, в первую очередь, в онкологии и гематологии. В мировой практике для повышения качества КТ и увеличения срока его хранения используют добавочные растворы, включая в их состав компоненты, поддерживающие жизнеспособность тромбоцитов [1, с. 206; 2, с. 1930]. Путем оптимизации среды

хранения удается снизить активацию тромбоцитов и улучшить их метаболизм [3, с. 309]. В России подобные растворы не разрабатывались, в связи с этим создание добавочного раствора для хранения КТ является весьма актуальной задачей для российской службы крови.

Целью настоящей работы являлась разработка состава отечественного добавочного раствора для хранения КТ и оценка его эффективности.

В качестве объекта исследования использовали донорские КТ, получаемые путем выделения лейкотромбослая (ЛТС) из дозы донорской крови с последующим пулированием 3-х доз ЛТС на центрифуге для автоматического разделения компонентов крови TAKSI PL KIT, TERUMO. Биохимические исследования проводили на биохимическом анализаторе Radiometr ABL-800 (Дания). Концентрацию тромбоцитов в ТК определяли на гематологическом анализаторе Medonik M-10 (Швеция). Агрегационные свойства тромбоцитов оценивали по методу Борна на анализаторе агрегации АТ-02 (Россия).

В результате исследования разработан состав нового добавочного раствора для хранения КТ, содержащий один из субстратов цикла Кребса – фумарат натрия. Установлено, что присутствие фумарата натрия способствует более экономичному потреблению глюкозы в процессе хранения КТ и уменьшению скорости образования лактата по сравнению с действием коммерческого добавочного раствора SSP+ (Франция). При заготовке КТ в контрольном растворе SSP+ уровень глюкозы падал до нуля к 6 дню хранения. В растворе с фумаратом натрия полное истощение фонда глюкозы наблюдалось к 8-9 дням наблюдения. Количество образовавшегося лактата в контрольном растворе в те же сроки составило $14,16 \pm 1,74$ ммоль/л, против $11,86 \pm 0,13$ ммоль/л в растворе с фумаратом натрия. Как известно, тромбоциты способны одновременно усваивать глюкозу двумя путями – аэробно и анаэробно. Судя по результатам, включенный в состав раствора фумарат натрия активировал процессы митохондриального окисления [4, с.113]. В ходе этих реакций происходило сдерживание нарастания содержания лактата в среде хранения тромбоцитов.

Новый добавочный раствор обеспечивал лучшую сохранность числа тромбоцитов в процессе их хранения. К 9 дню наблюдения в растворе SSP+ оставалось $86,7 \pm 2,6$ % клеток от их исходного количества. В растворе, содержащем фумарат натрия, к этому сроку определялось $94,1 \pm 1,8$ % тромбоцитов. Наряду

с этим, фумарат натрия позволял более длительно, по сравнению с раствором SSP+, поддерживать агрегационные свойства тромбоцитов [5, с. 40].

Таким образом, включение фумарата натрия в состав добавочного раствора позволило оптимизировать метаболическую активность тромбоцитов в процессе их хранения и увеличить срок хранения ТК до 7-9 суток, что важно для практического здравоохранения. Состав и технология получения нового добавочного раствора защищены патентом РФ № 2720487.

Список литературы:

1. Gulliksson H. Platelet storage media. *Vox Sang.*, 2014. 107; 2: 205–212.
2. Murphy S. The efficacy of synthetic media in the storage of human platelets for transfusion. *Transfus. Med. Rev.*, 1999. Vol. 13: 153–163.
3. Nogava M., Naito Y., Chatani M. Parallel comparison of apheresis-collected platelet concentrates stored in four different additive solutions. *Vox Sang.*, 2013. 105 (4): 305–312.
4. Слепнева Л.В., Хмылова Г.А. Механизм повреждения энергетического обмена и возможные пути его коррекции фумаратсодержащими растворами. *Международная медицина*, 2015. 14 (3):109-116.
5. Chechetkin A.V., Alekseeva N.N., Staritsyna N.N. The study of morphofunctional properties of platelets in the process of storing them in additive solution containing sodium fumarate. *Трансляционная медицина*, 2020. Т.7, № 2: 34–41.

ВОПРОСЫ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРОЛОКС-СОДЕРЖАЩЕГО КРИОЗАЩИТНОГО
РАСТВОРА ПРИ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИИ ЯДРОСОДЕРЖАЩИХ
КЛЕТОК КОРДОВОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА**

Бабийчук Любовь Александровна

д.б.н., проф., зав. отделом криоцитологии

Института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины,

г. Харьков

E-mail: BabijchukLA@gmail.com

Зубов Павел Михайлович

к.б.н., с.н.с. отдела криоцитологии

Института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины,

г. Харьков

E-mail: pmzubov@gmail.com

Макашова Елена Евгеньевна

к.б.н., м.н.с. отдела криоцитологии

Института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

E-mail: olena.makashova@gmail.com

**EFFICIENCY OF TROLOX-CONTAINING CRYOPROTECTIVE
SOLUTION DURING CRYOPRESERVATION OF HUMAN CORD BLOOD
NUCLEATED CELLS**

Lyubov Babijchuk

doct. biol. sciences, professor, head Department of Cryocytology,

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine,

NAS of Ukraine, Kharkiv

E-mail: BabijchukLA@gmail.com

Pavel Zubov

cand. biol. sciences, senior researcher Department of Cryocytology,

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine,

NAS of Ukraine, Kharkiv

e-mail: pmzubov@gmail.com

Elena Makashova

cand. biol. sciences, junior researcher Department of Cryocytology,

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine,

NAS of Ukraine, Kharkiv

E-mail: olena.makashova@gmail.com

Аннотация.

Проведена оценка эффективности криопротекторных растворов, содержащих ДМСО в концентрации 7,5% и антиоксидант тролокс, при криоконсервировании ядросодержащих клеток кордовой крови человека. Показано, что тролокс в концентрации 30-70 мкМ проявляет наивысшую антиоксидантную активность, обеспечивая сохранность клеток до 86% и жизнеспособность до 75%. Эти данные коррелируют с самым низким содержанием АФК в данных пробах.

Abstract.

The efficiency of cryoprotective solutions containing 7.5% DMSO and the antioxidant trolox was assessed during cryopreservation of human cord blood nucleated cells. It has been shown that trolox at a concentration of 30-70 μM exhibits the highest antioxidant activity, ensuring the cell safety up to 86% and viability up to 75%. These data correlate with the ones on lowest content of ROS in these samples.

Ключевые слова: кордовая кровь; антиоксиданты; криоконсервирование.

Keywords: cord blood; antioxidants; cryopreservation.

Применение гемопоэтических прогениторных клеток (ГПК) прочно вошло в практическую медицину развитых стран мира как эффективный способ лечения патологий крови, иммунной системы и др. заболеваний [1, с. 125]. Одним из источников ГПК является кордовая кровь (КК) человека. Благодаря ее уникальным свойствам, относительной простоте и безопасности заготовки, КК является востребованным источником ГПК. Разрыв во времени между моментом заготовки КК и введением ее в организм реципиента определяет необходимость применения технологий, позволяющих сохранять материал в биологически полноценном состоянии. Все это требует создания сети криобанков и разработку специальных протоколов низкотемпературного консервирования,

обеспечивающих высокие показатели сохранности и жизнеспособности клеток после размораживания. Известно, что в процессе криоконсервирования в силу различных физико-химических факторов происходит увеличение количества активных форм кислорода в клетках, вызывая нарушение энергетического состояния, повреждения структурных элементов через перекисное окисление липидов, а также повреждения ДНК, приводя к апоптозу или некрозу клеток. Исходя из этого, при составлении криопротекторной смеси целесообразно использовать дополнительные компоненты способные нейтрализовать свободные радикалы. Одними из таких веществ выступают антиоксиданты [2, с.1893].

Проведенные нами исследования показали эффективность и перспективность использования тролокса (водорастворимого аналога витамина Е) при криоконсервировании ЯСК КК человека с 7,5% ДМСО. Широкий концентрационный скрининг позволил установить, что тролокс в концентрации 30-70 мкМ проявляет наивысшую антирадикальную активность, обеспечивая сохранность клеток до 86% и жизнеспособность до 75% после размораживания (по результатам проточной цитофлуориметрии). Содержание активных форм кислорода (DCF-позитивные клетки) в данных пробах было на 30% ниже по сравнению с контролем (не содержащим тролокс). Сохранность и жизнеспособность ГПК при данных концентрациях тролокса составляла до 92% и 78%, соответственно, что указывает на их более высокую криоустойчивость.

Таким образом, полученные результаты указывают на эффективность данного антиоксиданта, при этом необходимо проведение дополнительных углубленных исследований для сужения концентрационного диапазона.

Список литературы:

1. Roura S., Pujal J.M., Gálvez-Montón C., Bayes-Genis A. The role and potential of umbilical cord blood in an era of new therapies: a review // *Stem Cell Res. Ther.*, 2015. Vol. 6, No. 1. P. 123–128.
2. Davargaon R.S., Sambe A.D., Subramanyam Muthangi V.V. Trolox prevents high glucose-induced apoptosis in rat myocardial H9c2 cells by regulating GLUT-4 and antioxidant defense mechanism // *IUBMB Life*, 2019. Vol. 71, No. 12. P. 1876–1895.

**ОЦЕНКА КАРИОТИПА МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ
КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА В ПРОЦЕССЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ**

Бутолина Мария Александровна

*лаборант-исследователь лаборатории клеточных технологий
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский
научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови*

Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: butolina.maria@yandex.ru

Ветошкин Константин Александрович

*кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией клеточных технологий
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский
научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови*

Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: vetoshkin@niigpk.ru

Новоселова Ирина Алексеевна

*лаборант-исследователь лаборатории патоморфологии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский
научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови*

Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: novoselova@niigpk.ru

Сарпова Мария Вадимовна

*научный сотрудник лаборатории патоморфологии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский
научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови*

Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: sarpova@niigpk.ru

ASSESSMENT OF THE KARYOTYPE OF BONE MARROW MESENCHYMAL STROMAL CELLS IN THE PROCESS OF CULTIVATION

Maria Butolina

Laboratory technician of the Laboratory of Cellular Technologies, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: butolina.maria@yandex.ru

Konstantin Vetoshkin

Ph. D, Head of the Laboratory of Cellular Technologies, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: vetoshkin@niigpk.ru

Irina Novoselova

Laboratory technician of the Laboratory of Pathomorphology Laboratory, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: novoselova@niigpk.ru

Maria Sarpova

Researcher of the Laboratory of Pathomorphology Laboratory, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: sarpova@niigpk.ru

Аннотация.

Цель — оценить кариотипы мезенхимальных стромальных клеток (МСК) костного мозга доноров и пациентов с множественной миеломой (ММ) в процессе культивирования. Материалы и методы. МСК получены из костного мозга 15 доноров и 13 пациентов с ММ. Кариотипы МСК оценивали путем стандартного цитогенетического исследования. Результаты. В кариотипах МСК доноров хромосомных аномалий не выявлено. В клетках, полученных от пациентов, в 15% случаев обнаружены хромосомные изменения: транслокация t(2;9)(q33;p22) и перичентрическая инверсия в хромосоме 3. Вывод. Кариотипы МСК пациентов с ММ отличаются меньшей стабильностью в сравнении с клетками доноров.

Abstract.

The aim is to assess the karyotype of mesenchymal stromal cells (MSC) of the bone marrow during cultivation. Materials and methods. MSC were obtained from the bone marrow of 15 donors and 13 patients with multiple myeloma. The karyotype of MSC was assessed by standard cytogenetic studies. Results. Chromosomal abnormalities of donors' MSC were not revealed. In cells obtained from patients, karyotype abnormalities were found in 15% of cases: translocation t (2;9) (q33;p22) and pericentric inversion in chromosome 3. Conclusions. The karyotype of patients' MSC is less stable than donors' cells.

Ключевые слова: мезенхимальные стромальные клетки; кариотип; хромосомные аномалии.

Keywords: mesenchymal stromal cells; karyotype; chromosomal abnormalities.

Известно, что мезенхимальные стромальные клетки (МСК) потенциально применимы в трансплантологии, гематологии, травматологии, кардиологии, радиационной медицине [2, с. 5-8]. Получение терапевтических доз МСК возможно только при их культивировании *in vitro* [4, с. 23-33]. Согласно исследованиям Ю.А. Шалыгиной и соавт. при экспансии клеточной линии в условиях *ex vivo* на поздних пассажах (больше 5-6) возможно возникновение нестабильности генома и анеуплоидии, приводящих впоследствии к появлению аномальных (трансформированных) клеточных клонов [1, с. 79-85; 3, с. 63-69]. В связи с этим актуальной задачей становится изучение кариотипов в полученных культуральным способом МСК.

Цель — оценить кариотипы МСК костного мозга доноров и пациентов с множественной миеломой (ММ) в процессе культивирования.

Материалы и методы. МСК получали из костного мозга доноров гемопоэтических стволовых клеток (n=15, медиана возраста 34 года) и пациентов с ММ (n=13, медиана возраста 55 лет). Больные ММ до выделения МСК получили терапию по схеме VCD (циклофосфамид, бортезомиб, дексаметазон; 2-10 циклов, 13 пациентов), VRD (леналидомид, бортезомиб, дексаметазон; 2-7 циклов, 3 пациента), RD (леналидомид, дексаметазон; 1 пациент), KRd (карфилзомиб,

леналидомид, дексаметазон; 2 больных, 2 и 5 циклов соответственно), талидомид с дексаметазоном (1 пациент, 3 курса). Культивирование МСК осуществляли в жидкой питательной среде на поверхности пластиковых флаконов в атмосфере 5% углекислого газа и температуре 37°C. Экспансию МСК доноров проводили в течение 3 пассажей, пациентов – 2. Кариотипы МСК оценивали путем стандартного цитогенетического исследования. Метафазные хромосомы анализировали с помощью микроскопа Axio Imager.A2 (CARL ZEISS, Германия), используя программный модуль GenASIs BandView.

Результаты. Исследовано 45 образцов МСК, полученных от доноров, и 26 — от пациентов. Во всех случаях число хромосом в клетках соответствовало нормальному (46,XY или 46,XX). В кариотипах донорских МСК аномалий не выявлено. В одном образце клеток больного ММ обнаружен клон с транслокацией t(2;9)(q33;p22) на пассаже №1. Пациент получил 10 курсов терапии по схеме VCD. Во втором случае выявлена перичентрическая инверсия в хромосоме 3 в первичном посеве, отсутствовавшая при дальнейшем культивировании. Терапия включала в себя 10 курсов VCD, по 2 курса VRD и KRД. В остальных наблюдениях кариотип аутологичных МСК соответствовал нормальному. Известно, что цитостатические препараты, применяемые в терапии ММ, неспецифически влияют не только на клетки опухолевого клона, но и на костномозговое микроокружение, основой которого являются МСК. Таким образом, диагностированные аномалии могут быть ассоциированы с противоопухолевой терапией.

Вывод. Кариотипы МСК пациентов с ММ при экспансии в условиях *ex vivo* отличаются меньшей стабильностью в сравнении с аналогичными характеристиками клеток доноров.

Список литературы

Методические рекомендации по проведению доклинических исследований биомедицинских клеточных продуктов. Методические рекомендации / МГУ им. М.В. Ломоносова. М., 2017. 251 с.

Сингенные мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки в терапии длительно незаживающих лучевых язв кожи в эксперименте / К.В. Котенко, Б.Б. Мороз, Ю.Б. Дешевой [и др.] // Медицинская радиология и радиационная безопасность, 2015. Т. 60, № 2. С. 5-8.

Сравнительный цитогенетический анализ мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток ранних пассажей и лимфоцитов человека / Ю.А. Шалыгина, О.А. Ефимова, П.В. Кругляков [и др.] // Гены & Клетки, 2009. Т. IV, № 2. С. 63-69.

Шахпазян Н.К., Астрелина Т.А., Яковлева М.В. Мезенхимальные стволовые клетки из различных тканей человека: биологические свойства, оценка качества и безопасности для клинического применения // Гены & Клетки, 2012. Т. VII, № 1. С. 23-33.

УДК 576.535

КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА

Дризе Нина Иосифовна

д.б.н., зав. лаб. «Физиологии кроветворения»

Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Национальный медицинский исследовательский центр гематологии»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, РФ, г. Москва

E-mail: ndrize@yandex.ru

CLINICAL APPLICATION OF BONE MARROW MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS

Nina Drize

PhD, Head of department "Physiology of Hematopoiesis"

National Research Center for Hematology, Russia, Moscow

E-mail: ndrize@yandex.ru

Аннотация.

В работе анализируется клинический эффект мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (МСК). Представлены данные по лечению различных заболеваний с помощью МСК, основанные их на способности к иммуномодуляции.

Использование МСК недостаточно эффективно, для улучшения эффекта МСК

изучают их основные свойства – экспрессию генов, пролиферативный потенциал, активацию и взаимодействие с лимфоцитами.

Показано, что популяция МСК гетерогенна, их эффективность зависит от их способности активироваться. Значимые параметры: экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости и молекул адгезии.

Abstract.

This paper analyzes the clinical effect of multipotent mesenchymal stromal cells (MSCs). The data on the treatment of various diseases using MSCs based on their ability to immunomodulation. The use of MSCs is not effective enough; to improve the effect of MSCs, their main properties are studied - gene expression, proliferative potential, activation and interaction with lymphocytes. The population of MSCs is heterogeneous; their efficiency depends on their ability to be activated. Significant parameters: expression of molecules of the major histocompatibility complex and adhesion molecules.

Ключевые слова: мультипотентные мезенхимные стромальные клетки; реакция трансплантат против хозяина; иммуномодуляция

Keywords: Multipotent mesenchymal stromal cells; graft versus host disease; immunomodulation

МСК вызывают значительный интерес среди сообщества клиницистов и ученых из-за их дифференцировочной пластичности, функции поддержания кроветворения и способности к иммуномодуляции. Многоцентровые исследования последних 10 лет не предоставили доказательства высокой эффективности применения МСК при терапии различных заболеваний, связанной с иммуномодулирующей активностью этих клеток. Однако показали возможность улучшения эффективности применения МСК при лечении перианальных фистул при болезни Крона [1, с.621], рассеянного склероза [3] consequently, have also been widely investigated as a potential treatment for MS. Therefore, the aim of this study was to conduct a systematic review to inquire into the safety, tolerability, and efficacy of mesenchymal stem cells (MSCs, при трансплантации почки [4, с.4614] и лечении и профилактике острой реакции трансплантат против хозяина после

аллогенной трансплантации гемопоэтических клеток [2].

Недостаточный терапевтический эффект МСК заставил всю область пересмотреть механизмы действия МСК вместе с манипуляциями с ними *ex vivo*.

МСК могут быть выделены из разных источников. Распространение МСК по всему телу поддерживается концепцией, указывающей на то, что МСК-подобные популяции клеток могут находиться практически во всех органах, и эффективность их применения зависит от источника. Показано, что популяция МСК гетерогенна. МСК различаются по морфологии, зависят от пола и возраста донора, сильно отличаются по относительному уровню экспрессии генов, пролиферативному потенциалу, реакции на активацию различными цитокинами, взаимодействию с лимфоцитами. МСК обладают индивидуальными характеристиками. Оказалось, что МСК не обладают иммунологической привилегией и в организме начинают экспрессировать антигены гистосовместимости.

При анализе множества характеристик МСК пока нельзя сделать однозначных выводов, однако ясно, что более эффективны МСК от молодых доноров. Эффективность МСК зависит от их способности активироваться при взаимодействии с лимфоцитами и провоспалительными цитокинами. К значимым параметрам относится экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости и молекул адгезии.

Существуют индивидуальные различия в МСК. Различия связаны не только с возрастом и полом. Должен быть индивидуальный подбор МСК для каждого пациента.

Список литературы:

1. Cheng, F., Huang, Z., Li, Z. Mesenchymal stem-cell therapy for perianal fistulas in Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. // *Tech. Coloproctol.* 2019. vol. 23, №7. P. 613–623.
2. Fisher, S. A., Cutler, A., Doree, C., et al. Mesenchymal stromal cells as treatment or prophylaxis for acute or chronic graft-versus-host disease in haematopoietic stem cell transplant (HSCT) recipients with a haematological condition // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2019. P. CD009768.
3. Oliveira, A. G., Gonçalves, M., Ferreira, et al. Growing evidence supporting

the use of mesenchymal stem cell therapies in multiple sclerosis: A systematic review // Mult. Scler. Relat. Disord., 2020.

4. Pool, M., Leuvenink, H., Moers, C. Reparative and Regenerative Effects of Mesenchymal Stromal Cells-Promising Potential for Kidney Transplantation? // Int. J. Mol. Sci. 2019. vol. 20, №18. P. 4614.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 19-29-04023).

УДК616-097.1:004.057:[615.38:616.419-018.4(476)

**HLA-ТИПИРОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДОНОРОВ
ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В УЧРЕЖДЕНИЯХ
СЛУЖБЫ КРОВИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

Злотникова Мария Владимировна

к.м.н., врач лабораторной диагностики

*ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и
медицинских биотехнологий», Республика Беларусь, г. Минск*

E-mail: rnpc@blood.by

Семёнов Геннадий Викторович

к.м.н., врач лабораторной диагностики

*ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и
медицинских биотехнологий», Республика Беларусь, г. Минск*

E-mail: rnpc@blood.by

Карпенко Фёдор Николаевич

к.м.н, директор

*ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и
медицинских биотехнологий», Республика Беларусь, г. Минск*

E-mail: typing@blood.by

**THE HLA TYPING OF POTENTIAL DONORS OF HEMATOPOIETIC
STEM CELLS IN THE N THE ESTABLISHMENTS OF BLOOD SERVICE
OF THE REPUBLIC OF BELARUS**

Maria Zlotnikova

*candidate of Medical Sciences, Doctors of Laboratory Diagnostics State University
«Republican scientific and practical center of Transfusiology and medical
biotechnology», Republic of Belarus, Minsk
E-mail: rnpc@blood.by*

Gennady Semenov

*candidate of Medical Sciences, Doctors of Laboratory Diagnostics State University
«Republican scientific and practical center of Transfusiology and medical
biotechnology», Republic of Belarus, Minsk
E-mail: rnpc@blood.by*

Fedor Karpenk

*candidate of Medical Sciences, Director
State University «Republican scientific and practical center of Transfusiology and
medical biotechnology», Republic of Belarus, Minsk
E-mail: typing@blood.by*

Аннотация.

Показатель эффективного развития Республиканского реестра Республики Беларусь находит свое отражение в ежегодном увеличении числа потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток за последние несколько лет, преимущественно за счёт кадровых и первичных доноров крови. Динамичное нарастание информационной базы HLA-типированных доноров гемопоэтических стволовых клеток Центрального реестра и перспективное объединение с регистрами других стран (Российской Федерации, Республики Казахстан и др.) повысит вероятность нахождения идентичного донора для трансплантации ГСК.

Abstract.

The indicator of effective development of the Republican register of the Republic of Belarus is reflected in the annual increase in the number of potential donors of hematopoietic stem cells over the past few years, mainly due to personnel and primary blood donors. The dynamic growth of the information base of HLA-type hematopoietic stem cell donors of the Central registry and the prospective association with the registers of other countries (the Russian Federation, the Republic of Kazakhstan, etc.) will increase the probability of finding an identical donor for GSC transplantation.

Ключевые слова: HLA-типирование; потенциальные доноры гемопоэтических стволовых клеток.

Keywords: HLA-typing; potential donors of hematopoietic stem cells.

Необходимым условием для выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) является наличие совместимого донора. Количество возможных комбинаций антигенов очень велико, поэтому для эффективного поиска необходимо иметь сотни тысяч предварительно исследованных потенциальных доноров [1, с.276, 2, с. 69].

Цель исследования

Изучить динамику численности HLA-типированных потенциальных доноров ГСК в организациях службы крови.

Материалы и методы

В Республике Беларусь с 2012 года функционирует регистр доноров гемопоэтических стволовых клеток, объединяющий в себе информацию об HLA-фено(гено)типах потенциальных доноров ГСК из 7 баз данных учреждений переливания крови. Состав регистра проанализирован по гендерным отличиям и возрастным категориям: до 18 лет; 18 - 29; 30 - 39; 40 - 49 лет; 50 - 59 лет и лица старше 60.

Результаты

К 2014 году в Республике Беларусь (РБ) сформировалась четкая система рекрутирования потенциальных доноров ГСК в базу данных Центрального реестра. По состоянию на апрель 2021 года в базе HLA-типированных потенциальных доноров ГСК всего состояло 77265 доноров ГСК, из них доноров ГУ «РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий» (РНПЦ ТиМБ) составило 20627 человек. Из них у 16229 лиц было проведено HLA-типирование по II классу молекулярно-генетическими методами, что составило 78,7 % от общего количества потенциальных доноров ГСК. Половозрастной анализ группы потенциальных доноров ГСК выявил преобладание женщин (63%) по сравнению с мужчинами (37%). Различия в гендерной структуре реестра РНПЦ ТиМБ наиболее ярко проявляется в возрастной категории от 18 до 39 лет –

количество доноров-женщин более чем в 2 раза превышает численность мужчин. В других возрастных категориях гендерных отличий не наблюдается. Среди потенциальных доноров ГСК наиболее многочисленной является возрастная группа от 18 до 39 лет – 70%; количество лиц старше 60 лет составило 0,9%. Стоит обратить внимание, что по сравнению с прошлым годом, количество лиц старше 60 возросло на 0,2%; а максимальное количество лиц старше 60 лет в составе реестра прогнозируется на 2039 год, когда произойдёт естественное старение наиболее многочисленной группы доноров на данный момент.

В ОСПК и Центрах трансфузиологии было рекрутировано и проведено HLA-типирование следующего количества доноров ГСК: Брест – 5744, Витебск – 3359, Гомель – 8751, Гродно – 8089, Могилев – 8644, Молодечно – 4222. Таким образом, благодаря учреждениям службы крови в базе состоит 59436 человек, что составляет 77% от общего количества доноров ГСК.

Выводы

Показатель эффективного развития Республиканского реестра находит свое отражение в ежегодном увеличении числа потенциальных доноров ГСК за последние несколько лет, преимущественно за счёт кадровых и первичных доноров крови. Значительная численность доноров крови, зарегистрированных в учреждениях службы крови, и высокие темпы рекрутирования доноров в Республике Беларусь повысят вероятность нахождения идентичного донора для трансплантации ГСК и позволят считать возможным в ближайшее время перспективное объединение с регистрами других стран (Российской Федерации, Республики Казахстан и др.) и включение Центрального реестра доноров ГСК Республики Беларусь в Международную ассоциацию доноров костного мозга.

Список литературы:

1. Gratwohl, A. The EBMT activity survey 2007 with focus on allogeneic HSCT for AML and novel cellular therapies / A. Gratwohl, H. Baldomero [et all.] // Bone Marrow Transplantation – 2009. - № 43 – P. 275-291.
2. Uss, L. The list of donors of stem hemopoietic cells for unconnected transplantations in Belarus / L. Uss, D. Pinevich., V. Kushnirenko, N. Milanovich, N. Dedyulya, V. Levin // Medical Niue's – 2011. - № 9 – P. 69-70.

**ВНЕДРЕНИЕ СИСТЕМЫ МЕНЕДЖМЕНТА КАЧЕСТВА ПРИ
ОСУЩЕСТВЛЕНИИ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ПО ЗАГОТОВКЕ
ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

Калинина Елена Николаевна

младший научный сотрудник лаборатории препаратов крови Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: kalininaen@niigpk.ru

Минаева Наталья Викторовна

кандидат медицинских наук, заместитель директора по лечебной работе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: minaeva@niigpk.ru

**IMPLEMENTATION OF THE QUALITY MANAGEMENT SYSTEM FOR
THE PROCUREMENT OF HEMATOPOIETIC STEM CELLS**

Elena Kalinina

Junior Researcher of Blood products laboratory, the Federal State-Financed scientific institution Kirov research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical and Biological Agency, Russia, Kirov

E-mail: kalininaen@niigpk.ru

Natalia Minaeva

Candidate of Medical Sciences, Deputy Director for Medical Work, the Federal State-Financed scientific institution Kirov research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical and Biological Agency, Russia, Kirov

E-mail: minaeva@niigpk.ru

Аннотация.

Цель. Определить требования к обеспечению эффективности и безопасности применения гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Метод. Принципы функционирования системы менеджмента качества (СМК) сформулированы на основе процессного подхода. Результат. Определен перечень процедур, необходимых для внедрения СМК. Выводы. Разработанный унифицированный алгоритм управления качеством может быть использован в медицинских организациях, осуществляющих заготовку костного мозга и ГСК.

Abstract.

Background. Determine the requirements for ensuring the effectiveness and safety of the use of hematopoietic stem cells (HSC). Method. The principles of functioning of the quality management system (QMS) are formulated on the basis of the process approach. Result. The list of procedures required for the implementation of the QMS is defined. Conclusions. The developed unified quality management algorithm can be used in medical organizations that produce bone marrow and HSC.

Ключевые слова: медицинская организация; гемопоэтические стволовые клетки; система менеджмента качества.

Keywords: medical organization; hematopoietic stem cells; quality management system.

Деятельность по заготовке ГСК направлена на своевременное обеспечение реципиентов качественным трансплантатом, обладающим гарантированной безопасностью. Согласно современным российским и международным требованиям для надлежащего выполнения такой задачи в медицинской организации должна быть внедрена СМК. Это может быть реализовано на основе процессного подхода, в рамках которого рекомендуется выделять следующие составляющие:

- управление СМК;
- основные (производственные) процедуры;
- выполнение измерений;

- обеспечивающие (вспомогательные) работы.

Управление СМК заключается в утверждении политики и целей в области качества, оценке удовлетворенности потребителей, рассмотрении претензий, жалоб и рекламаций, расследовании отклонений и несоответствий, учете изменений, разработке корректирующих и предупреждающих мер, анализе эффективности менеджмента качества.

К производственным процессам относятся мероприятия по заготовке клеточных продуктов, включающие в себя:

обработку запросов на заготовку клеточных продуктов, медицинское обследование доноров и допуск к донации в рамках активации доноров ГСК;

проведение эксфузии костного мозга, афереза ГСК периферической крови, неотложную помощь при возникновении реакций и осложнений;

маркировку полученного трансплантата;

контроль качества и выпуск клеточных продуктов;

хранение заготовленных ГСК;

транспортирование биоматериала и его передачу потребителю;

получение, оценку сведений о результатах входного контроля заказчика;

мониторинг данных о реципиентах после трансплантации;

сбор и анализ информации о донорах ГСК после донации (динамическое наблюдение и ранний послеоперационный мониторинг состояния доноров).

Выполнение измерений реализуется при использовании лабораторных и инструментальных методов контроля качества и мониторинга.

В перечень обеспечивающих работ входят:

создание и поддержание производственной среды;

материально-техническое снабжение;

управление персоналом;

организационно-методическая работа, делопроизводство;

построение и регулирование использования хозяйственной, инженерной,

информационной инфраструктуры;

эксплуатация и обслуживание оборудования;

автотранспортное обеспечение;

юридическое сопровождение.

Внешние процессы осуществляются с помощью сторонних исполнителей на основе договоров/контрактов. Их перечень определяется исходя из установленных потребностей и имеющихся возможностей организации.

Требования СМК обязательны для исполнения всеми сотрудниками, участвующими в выполнении основных и вспомогательных работ, посредством чего реализуется принцип целостности этой системы и задается единое направление на получение общего результата и достижение поставленной цели. Изменения в алгоритм менеджмента качества допустимо вносить в плановом порядке с учетом постоянной оценки его эффективности, в текущем режиме при проведении предупреждающих и корректирующих мероприятий.

Таким образом, на основе политики и целей в области качества, оценки удовлетворенности потребителей, результатов внешних и внутренних аудитов, работы с обращениями потребителей, разбора выявленных нарушений и внесенных изменений, корректирующих и предупреждающих действий, а также анализа функционирования СМК, может быть достигнута требуемая результативность деятельности организации.

Разработанный унифицированный алгоритм управления качеством может быть использован в медицинских организациях, осуществляющих заготовку костного мозга и ГСК.

Список литературы:

1. Приказ Минздрава России от 07.06.2019 №381н «Об утверждении требований к организации и проведению внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности».
2. Приказ Минздрава России от 12.12.2018 №875н «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи при заболеваниях (состояниях), для лечения которых применяется трансплантация (пересадка) костного мозга и

гемопоэтических стволовых клеток».

3. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ ИСО 9000-2015 «Системы менеджмента качества. Основные положения и словарь».

4. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ ИСО 9001-2015 «Системы менеджмента качества. Требования».

5. Guidance to Accompany the FACT-JACIE International Standards for Cellular Therapy Product Collection, Processing, and Administration, Accreditation Manual, Sixth Edition.

6. Hemapoietic Stem Cell Transplantation: A Handbook for Clinicians, Second Edition (AABB).

УДК 576.535

**ХАРАКТЕРИСТИКИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ
СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА БОЛЬНЫХ
ГЕМОБЛАСТОЗАМИ**

Петинати Наталия Арнольдовна

к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения

Федерального государственного бюджетного учреждения

«Национальный медицинский исследовательский центр»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, РФ, г. Москва

E-mail: loel@mail.ru

**CHARACTERISTICS OF MULTIPOTENT BONE MARROW
MESENCHYMAL STROMAL CELLS IN PATIENTS WITH
HEMOBLASTOSIS**

Nataliya Petinati

Ph.D., Senior Researcher, Laboratory of Physiology of Hematopoiesis

National Research Center for Hematology

Russian Federation, Russia, Moscow

E-mail: loel@mail.ru

Аннотация.

Цель: изучить изменения в характеристиках мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (МСК) из костного мозга больных миелоидными лейкозами и лимфопролиферативными заболеваниями. Изучали суммарную клеточную продукцию МСК, их пролиферативный потенциал и экспрессию генов, связанных с дифференцировкой и регуляцией кроветворения. В МСК всех больных отмечалось повышение относительного уровня экспрессии *IL6*, при лейкозах - *JAG1*, *LIF*, *CSF1*, при миелоидных - *PPARG* и *PDGFRA*. Выявлены изменения в МСК пациентов, участвующие в поддержании кроветворения и опухолевых клеток.

Abstract.

The aim: to study the changes in the characteristics of multipotent mesenchymal stromal cells (MSCs) from the bone marrow of patients with myeloid leukemia and lymphoproliferative diseases. MSCs total cell production, their proliferative potential, and differentiation and regulation of hematopoiesis gene expression were studied. In MSCs of all patients, an increase in the relative expression level of *IL6*, *JAG1*, *LIF* was noted, in acute leukemia - *CSF1*, *IL1b* and *IL1bR1*, in myeloid - *PPARG* and *PDGFRa*. Changes in patients' MSCs involved in hematopoiesis and tumor cells maintenance were revealed.

Ключевые слова: мультипотентные мезенхимные стромальные клетки; острый лейкоз; хронический миелоидный лейкоз, диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома.

Keywords: multipotent mesenchymal stromal cells; acute leukemia; chronic myeloid leukemia, diffuse B-cell large cell lymphoma.

Кроветворение у взрослого человека поддерживается и регулируется стромальным микроокружением костного мозга. При развитии гемобластозов опухолевые клетки также существуют за счет стромального микроокружения, при этом они адаптируют строму костного мозга под собственные нужды. Мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (МСК) – клетки-предшественницы стромальных клеток, которые могут быть выделены из

костного мозга и исследованы *in vitro*.

Целью работы было изучить изменения МСК больных гемобластозами в дебюте заболевания по сравнению с МСК из костного мозга здоровых доноров.

МСК были выделены из костного мозга больных в дебюте заболевания: 33 - острым миелобластным лейкозом (ОМЛ), 20 - острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), 20 - хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ) и 41 - диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ) без поражения костного мозга. Последняя группа позволяет оценивать изменения, происходящие при отсутствии опухолевых клеток непосредственно в костном мозге. В качестве контроля использовали образцы МСК, полученные из костного мозга 121 здорового донора. Для каждой нозологии была подобрана группа доноров, соответствующих по возрасту. МСК культивировали стандартным методом в среде *aMEM* с добавлением 10% ЭТС в течение 3 пассажей. Оценивали суммарную клеточную продукцию, время до достижения конфлюэнтного монослоя (P0), относительный уровень экспрессии генов (ОУЭ) методом ПЦР в реальном времени.

Суммарная клеточная продукция МСК больных в дебюте заболевания не отличается от таковой у здоровых доноров соответствующего возраста. При ОЛЛ суммарная клеточная продукция МСК достоверно ниже, чем при ХМЛ и ДВККЛ. При ОМЛ наблюдается аналогичная тенденция. Однако время до P0 достоверно повышено при всех исследованных лейкозах ($p < 0,01$), что свидетельствует о снижении концентрации МСК в костном мозге этих пациентов. Показательно, что у больных ДВККЛ без поражения костного мозга время до P0 не увеличено по сравнению со здоровыми донорами, вероятно именно за счет отсутствия прямого взаимодействия опухолевых клеток со стромальным микроокружением костного мозга. В МСК всех больных повышена экспрессия гена провоспалительного цитокина *IL6*, при всех лейкозах повышен ОУЭ генов факторов регуляции кроветворных клеток *JAG1*, *LIF* и *CSF1* и снижен ОУЭ маркера хрящевой дифференцировки *SOX9*. При миелоидных лейкозах повышен ОУЭ гена маркера жировой дифференцировки МСК *PPAR γ* и гена регулятора пролиферации стромальных клеток *PDGFR α* . ОУЭ молекулы адгезии *ICAM1* зависит от нозологии. При лимфоидной опухоли уровень экспрессии этой молекулы ниже, чем при миелоидных новообразованиях. Уровень экспрессии *FGF2* снижен при всех лейкозах и повышен при ДВККЛ, что коррелирует с

суммарной клеточной продукцией МСК и временем до P0.

Таким образом показано, что стромальное микроокружение костного мозга при развитии гемобластоза изменяется как при прямом взаимодействии с опухолевыми клетками, так и за счет дистантного воздействия опухоли.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект №19-29-04023).

УДК 576.53

СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ МИЕЛОКАРИОЦИТОВ НА ГРАДИЕНТЕ ПЛОТНОСТИ И С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Пестрикова Анастасия Олеговна

лаборант-исследователь лаборатории клеточных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: pestrikova.work@gmail.com

Бутолина Мария Александровна

лаборант-исследователь лаборатории клеточных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: butolina.maria@yandex.ru

Ветошкин Константин Александрович

кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией клеточных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: vetoshkin@niigpk.ru

Утемов Сергей Вячеславович

кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории

*клеточных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: utemov@niigpk.ru*

**COMPARISON OF METHODS FOR ISOLATION OF
MYELOKARYOCYTES ON A DENSITY GRADIENT AND WITH THE USE
METHYLCELLULOSE**

Anastasiya Pestrikova

*laboratory technician of the Laboratory of cell technologies of the Federal State Budgetary Institution of Science “Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical and Biological Agency”, Russia, Kirov
E-mail: pestrikova.work@gmail.com*

Maria Butolina

*laboratory technician of the Laboratory of cell technologies of the Federal State Budgetary Institution of Science “Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical and Biological Agency”, Russia, Kirov
E-mail: butolina.maria@yandex.ru*

Konstantin Vetoshkin

*Ph. D, Head of the Laboratory of Cellular Technologies, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency, Russia, Kirov
E-mail: vetoshkin@niigpk.ru*

Sergey Utemov

*Ph. D, leading researcher of the Laboratory of Cellular Technologies, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency, Russia, Kirov
E-mail: utemov@niigpk.ru*

Аннотация.

Применение мезенхимальных стромальных клеток (МСК) в клеточной терапии

требует их наработки в достаточных количествах в условиях *in vitro*. Посев фракции ядерных клеток - миелокариоцитов (МКЦ), выделенных из костного мозга (КМ), позволяет получить первичную культуру МСК. В работе проведено сравнение методов выделения МКЦ в градиенте плотности «Lympholite-H» и с применением 0,2% раствора метилцеллюлозы. Эффективность выделения МКЦ в градиенте плотности составила 46,4%, а с использованием 0,2% метилцеллюлозы - 45,9 %. Данные методы являются взаимозаменяемыми при фракционировании КМ.

Abstract.

The use of mesenchymal stromal cells (MSCs) in cell therapy requires their production in sufficient quantities *in vitro*. Sowing a fraction of nuclear cells - myelokaryocytes (MKC), isolated from bone marrow (BM), allows you to obtain a primary culture of MSC. The paper compares the results of the isolation of MKC using the density gradient “Lympholite-H” and 0.2% methylcellulose solution. The efficiency of isolation of MKC using the density gradient “Lympholite-H” was 46.4%; and for using 0.2% methylcellulose was 45.9%. These techniques can be equally applied to the process of fractionation of BM.

Ключевые слова: фракционирование; миелокариоциты; градиент плотности.

Keywords: fractionation; myelokaryocytes; density gradient.

Введение. Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) являются важным средством регенеративной медицины, клеточной терапии и тканевой инженерии [1, с. 6; 2, с. 20]. В костном мозге (КМ) МСК присутствуют в количестве 0,001-0,01%. Средняя терапевтическая доза клеток, применяемая в клинической практике, составляет 2×10^6 кл/кг массы тела пациента. Необходимое количество клеточного материала может быть получено путем культивирования МСК в условиях *in vitro* [3, с. 65-71].

Материал для культивирования МСК получают методом фракционирования КМ с выделением миелокариоцитов (МКЦ). Существует несколько способов, позволяющих выделить суспензию ядерных клеток из КМ, а именно: центрифугирование в градиенте плотности с применением среды «Lympholite-H»

(Cedarline, Канада), ускорение процесса спонтанной седиментации эритроцитов на основе физико-химических свойств полимеров, например, метилцеллюлозы.

Цель – сравнить эффективность выделения МКЦ в градиенте плотности «Lympholite-H» и при использовании метилцеллюлозы.

Материалы и методы. КМ получали от доноров гемопоэтических стволовых клеток в период с 2018 по 2020 гг. (n=40), возраст которых варьировал от 15 до 66 (медиана 53,5) лет. Количество мужчин – 24, женщин – 16.

Выделение МКЦ с применением «Lympholite-H» осуществляли путем наслаивания образца КМ на градиент в объемном соотношении 2:1 соответственно и последующего центрифугирования при режиме 1800 об/мин. в течение 20 мин. После центрифугирования извлекали средний слой ядерных клеток, находящийся между верхним прозрачным слоем плазмы и нижним плотным - эритроцитов. Отмывание клеток от градиента проводили питательной средой «Dulbecco`s Modified Eagle`s Medium (DMEM)» при трехкратном центрифугировании и ресуспендировании полученного осадка.

Процедура выделения МКЦ с использованием метилцеллюлозы включала в себя смешивание образца КМ с 0,2% раствором полимера в объемном соотношении 2:1. Пробу инкубировали в течение 1 часа при температуре 20-25°C. В результате образец разделялся на 2 слоя. Верхний слой, содержащий фракцию МКЦ, извлекали; клетки отмывали питательной средой DMEM от остаточных количеств полимера двукратно.

Подсчет концентрации ядерных клеток в исходном образце КМ и после выделения МКЦ осуществляли унифицированным методом в камере Горяева. Общее содержание клеток получали путем умножения концентрации МКЦ на объем суспензии. За эффективность методов выделения фракции МКЦ принимали процентное соотношение количества выделенных клеток к исходному значению.

Культивирование МСК осуществляли в полной питательной среде следующего состава: среда α Minimum Essential Medium Eagle («StemCells Technologies»), богатая тромбоцитами плазма (4%), гепарин («Sigma», 2 Ед/мл), L-глутамин 2 мМ («StemCells Technologies»). Культуру МСК инкубировали при температуре 37° С в атмосфере 5% углекислого газа (CO₂-инкубатор Sanyo MCO-5AC). На 14 сут. культивирования производили подсчет фибробластных

колониеобразующих единиц (КОЕ-Ф) с использованием инвертированного микроскопа МС-700 (I) Micros. Результаты представляли в виде медианы, минимума и максимума. Для сравнения использовали непараметрический критерий Манна-Уитни.

Результаты

Результаты выделения ядерных клеток из КМ двумя методами представлены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты сравнения методов выделения миелокариоцитов

Показатель	Метод выделения	
	Градиент плотности «Lympholite-H»	Метилцеллюлоза
Количество ядерных клеток в исходном образце, $\times 10^6$	419,1 (352,4-580,0)	401,9 (310,0-532,5)
Количество выделенных ядерных клеток, $\times 10^6$	147,8 (49,9-278,5)	140,5 (35,6-284,5)
Эффективность метода, %	46,4(37,0-61,8)	45,9 (25,6-68,8)
КОЕ-Ф на 1×10^6 МКЦ	13,5 (4,8-23,1)	15,0 (5,7-27,6)

Медианы значений исходного содержания МКЦ для двух методов сопоставимы. Средняя эффективность выделения МКЦ с использованием градиента плотности «Lympholite-H» составила 46,4 %, а метилцеллюлозы - 45,9 %. Различия в эффективности методов выделения статистически недостоверны ($p > 0,05$, критерий Манна-Уитни).

Время получения МКЦ на градиенте плотности составляло в среднем 150 (140-160) мин. Фракционирование КМ с применением метилцеллюлозы занимало 120 (110-130) мин. Среднее количество КОЕ-Ф после посева фракции МКЦ, выделенной при помощи градиента плотности, равнялось 13,5 на 1×10^6 МКЦ, а для культур, полученных из МКЦ с применением метилцеллюлозы, - 15,01 на 1×10^6 МКЦ. Различия статистически недостоверны ($p > 0,05$, критерий Манна-Уитни).

Заключение

Сравнение методов выделения МКЦ на градиенте плотности «Lympholite-H» и с применением 0,2 % раствора метилцеллюлозы свидетельствует об их одинаковой эффективности. Данные методы являются взаимозаменяемыми при фракционировании КМ.

Список литературы:

1. Бигильдеев А. Е. Устройство и регуляция отдела стволовых мезенхимных клеток: дис. докт. биол. наук: 14.01.21. – Москва, 2017 – 270 с.
2. Мезен Н. И., Квачева Н. И., Сычик Л. М. Стволовые клетки: учеб.-метод. пособие. 2-е изд., доп. Минск: БГМУ, 2014. - 62 с.
3. Культивирование мезенхимальных стволовых клеток *ex vivo* в различных питательных средах (обзор литературы и собственный опыт) / Т. В. Шаманская, Е. Ю. Осипова, Б. Б. Пурбуева [и др.] // Онкогематология. – 2010. – № 3. – С. 65–71.

УДК 615.387

ИЗМЕНЕНИЯ СВОЙСТВ ДЕКРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ ОТМЫТЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВРЕМЕННОГО ФАКТОРА

Утемов Сергей Вячеславович

кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: utemov@niigpk.ru

Исаева Наталья Васильевна

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной и молекулярной иммунологии Федерального государственного

*бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: isaeva@niigpk.ru*

Пестрикова Анастасия Олеговна
*лаборант - исследователь лаборатории клеточных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: pestrikova.work@gmail.com*

Бутолина Мария Александровна
*лаборант-исследователь лаборатории клеточных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: butolina.maria@yandex.ru*

CHANGES IN THE PROPERTIES OF DECRYOPRESERVED WASHED HEMATOPOIETIC STEM CELLS DEPENDING ON THE TIME FACTOR

Sergei Utemov

*Ph.D., leading researcher of the Laboratory of Cell Technologies of the Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: utemov@niigpk.ru*

Natalia Isaeva

*candidate of Biological Sciences, Senior Researcher Laboratory of Cellular and Molecular Immunology of the Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: isaeva@niigpk.ru*

Anastasiya Pestrikova

laboratory technician of the Laboratory of Cell Technologies of the Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: pestrikova.work@gmail.com

Maria Butolina

laboratory technician of the Laboratory of Cell Technologies of the Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: butolina.maria@yandex.ru

Аннотация.

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) остается одним из эффективных методов лечения гемобластозов. Для клеточной терапии используют аферезный лейкоцитный концентрат (ЛК), содержащий ГСК. Цель: установить изменения количественных и функциональных свойств размороженных и отмытых от диметилсульфоксида (ДМСО) ГСК с учетом временного фактора. Несмотря на уменьшение общего количества клеток с течением времени, возможна инфузия биоматериала реципиенту не позднее 6 часов после процедур оттаивания и отмывания.

Abstract.

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) remains one of the most effective methods of treating hemoblastosis. For cell therapy, an apheresis leukocyte concentrate (LC) containing HSC is used. The aim is to determine changes in the quantitative and functional properties of defrosted HSCs washed from dimethylsulfoxide (DMSO), taking into account the time factor. Despite the decrease in the total number of cells over time, it is possible to infuse the biomaterial to the recipient no later than 6 hours after thawing and washing procedures.

Ключевые слова: гемопоэтические стволовые клетки; диметилсульфоксид; отмывание; сохранность клеток.

Keywords: hematopoietic stem cells; dimethylsulfoxide; washing; preservation of cells.

Введение. Данные литературы о динамике изменений количественных и функциональных свойств ГСК после размораживания и отмывания от ДМСО немногочисленны. Рекомендовано проводить инфузию трансплантата как можно быстрее, так как сохранность ГСК снижается после размораживания [1, с. 60-61].

Цель – установить изменения количественных и функциональных свойств размороженных отмывтых от диметилсульфоксида (ДМСО) ГСК с учетом временного фактора.

Материалы и методы. Представлены данные о качестве биоматериала после криоконсервирования и отмывания. Оттаивание ЛК проводили в водной среде при температуре от 39°C до 41°C. ГСК-содержащие ЛК отмывали от ДМСО, добавляя к клеточной суспензии смесь альбумина и полиглюкина (в соотношении 1:4) в количестве, превышающем исходный объем взвеси клеток в 1,5-2 раза; после центрифугирования при 2000g в течение 5 мин. супернатант удаляли, а клеточный осадок ресуспендировали в смеси альбумина и полиглюкина [3, с. 4].

Из пакета с отмывтой клеточной взвесью, подготовленной к трансплантации, отбирали пробы для исследований (n=12). Лабораторный анализ проб выполняли в следующих временных точках: непосредственно после их отбора и через 3, 6 и 24 часа хранения при комнатной температуре.

Абсолютное количество ядросодержащих клеток (ЯСК) в отобранных пробах подсчитывали унифицированным методом в камере Горяева. Образцы тестировали на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto™ II (BD Biosciences, США), использовали программное обеспечение «BD FACS Diva» версии 7.0 (BD Biosciences, США) [2, с. 40 – 41; 4, р. 784-792]. Идентификацию и количественную оценку ГСК проводили в соответствии с рекомендациями Международного общества гемотерапии и трансплантационной инженерии ISHAGE [5, р. 213-226]. Контроль жизнеспособности ЯСК выполняли, определяя относительное число клеток неокрашенных красителем 7-аминоактиномицином D (7-AAD). Достоверность изменений показателей оценивали при помощи непараметрического статистического критерия Фридмана.

Результаты. Данные о сохранности ГСК после размораживания, отмывания и хранения представлены в таблице 1.

Таблица 1. Количество декриоконсервированных отмывтых ядродержащих клеток в зависимости от временного фактора

Показатель	Сразу после отмывания	Через 3 часа	Через 6 часов	Через 24 часа
	n =12	n = 12	n ==12	n = 9
Относительное количество ЯСК, %	100,0	94,9 ± 3,0*	86,9 ± 6,5*	81,0 ± 6,1*
Содержание 7 - А А Д - негативных клеток, %	73,1± 5,7	48,3 ± 7,4*	45,2 ± 7,5*	10,6 ± 4,2*
CD34-позитивные клетки, %	100,0	67,9± 17,7*	63,4± 22,6*	50,4± 15,7*

* достоверность различия показателей по сравнению с исходными $p < 0,05$

Результаты отражены в виде средней величины со стандартным отклонением и приведены в процентном соотношении в сравнении с исходным показателем (сразу после отмывания). Из приведенных данных видно, что с течением времени достоверно снижается общее количество клеток со 100 % до 95 % ($94,9 \pm 3,0\%$) через 3 часа, до 87 % ($86,9 \pm 6,5$) через 6 и до 81 % ($81,0 \pm 6,1\%$) через 24 часа.

Определение числа жизнеспособных ГСК по содержанию 7-ААД-негативных клеток выявило, что их уменьшение наблюдается через 3 часа до 48,3 %, до 45,2% через 6 часов, максимальное снижение до $10,6 \pm 4,2$ через 24 часа.

Меньше изменились показатели ГСК по степени экспрессии маркера CD34. Поскольку вероятно снижение общего количества, содержания 7-ААД-негативных клеток и CD34-позитивных клеток (через 24 часа $50,4 \pm 15,7\%$), установлены допустимые пределы хранения готового к трансплантации биоматериала от 3 до 6 часов.

Выводы. Тенденция к снижению биологической активности ГСК в экспериментах *in vitro* наблюдается уже через 3 часа, следовательно, инфузию биоматериала реципиенту следует проводить в кратчайшие сроки после отмывания, но не позднее 6 часов.

Список литературы:

1. Анализ влияния экспозиции размороженного лейкоконцентрата на сохранность гемопоэтических стволовых клеток / А.А. Степанов, Е.В. Коротаев, А.Н. Косарев, [и др.] // Вестник гематологии. – 2016. - Том XII, № 2. – с .60 – 61.
2. Оценка воздействия наноматериалов на функцию иммунитета: Методические рекомендации. 1.2.0052 - 11.М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012. - 46с.
3. <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70041070/> (дата обращения: 12. 05.21)
4. Способ снижения токсичности криоконсервирующего раствора на основе диметилсульфоксида после размораживания гемопоэтических стволовых клеток. Патент на изобретение № 2744614.- 2020 г., Авторы: Утемов С.В., Ветошкин К.А., Князев М.Г., Безрукова Л.А., Исаева Н.В., Минаева Н.В.
5. Reduction of intra- and interlaboratory variation in CD34- stem cell enumeration using stable test material, standard protocols and targeted training. CD34. Task Force of the European Working Group of Clinical Cell Analysis (EWGCCA) / D. Barnett, V. Granger, J. Kraan [et al.] // Br. Haematol. – 2000. - V. 108, N3. – P. 784 – 792.
6. The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry / D.R. Sutherland, L. Anderson, M. Keeneyi [et al.] // Journal of Hematotherapy. - 1996. - V. 5 N3. – P. 213-226.
7. The Mexican Way: a feasible approach to avoid DMSO toxicity/ Schroeder, T., Fenk, R., Saure, C. [et al.]// Bone Marrow Transplant. – 2011. – V. 46. - P. 469–471 <https://doi.org/10.1038/bmt.2010.140>

ВОПРОСЫ ГЕМОСТАЗИОЛОГИИ

**ПОКАЗАТЕЛИ ФАКТОРА ВИЛЛЕБРАНДА И ADAMTS 13 У
ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА С ПОДЪЕМОМ
СЕКМЕНТА ST, ДЕМОНИСТРИРУЮЩИМ МАКСИМАЛЬНЫЕ
ЗНАЧЕНИЯ ТРОПОНИНА I В ПЕРВЫЕ СУТКИ**

Беляева Елена Леонидовна

*к.м.н., доцент кафедры гематологии и трансфузиологии
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский
университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, заместитель главного
врача по медицинской части Санкт-Петербургского городского бюджетного
учреждения здравоохранения «Городская больница № 26», РФ,
г. Санкт-Петербург
E-mail: t7363783@mail.ru*

Гуткин Игорь Михайлович

*заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии
Санкт-Петербургского городского бюджетного учреждения здравоохранения
«Городская больница № 26», РФ, г. Санкт-Петербург
E-mail: gutkin91@yandex.ru*

**INDICATORS OF WILLEBRAND FACTOR AND ADAMTS 13 IN
PATIENTS WITH ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION WITH ST-
SEGMENT ELEVATION DEMONSTRATING MAXIMUM TROPONIN I
VALUES ON THE FIRST DAY**

Elena Beliaeva

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of
Hematology and Transfusiology of the North-Western State Medical University
named after I.I. Mechnikov, Deputy Chief Physician for the Medical Part of the St.
Petersburg State "City Hospital N 26", Russia, St. Petersburg
E-mail: t7363783@mail.ru*

Igor Gutkin

*Head of the Department of Intensive Care of the St. Petersburg State "City Hospital N 26", Russia, St. Petersburg
E-mail: gutkin91@yandex.ru*

Аннотация.

Цель. Выявить возможные отклонения таких показателей системы гемостаза, как фактор Виллебранда и ADAMTS13 у пациентов с острым инфарктом миокарда. **Методы.** В группу исследуемых включены 7 пациентов с острым инфарктом миокарда с элевацией сегмента ST на ЭКГ, у которых зарегистрировано максимальное значение тропонина I в первые сутки и были определены уровень фактора Виллебранда, содержание антигена металлопротеазы ADAMTS-13, ее активность. **Результат.** В исследуемой группе выявлено повышение уровня фактора Виллебранда выше верхней границы референсного интервала как при поступлении, так и к концу первых суток, указанный феномен сочетался с нормальными показателями уровня активности металлопротеазы ADAMTS-13 и ее антигена. **Выводы.** Отклонения от референсных значений в системе фактор Виллебранда-ADAMTS-13 у пациентов с острым инфарктом миокарда представляет клинический и диагностический интерес.

Abstracts.

The aim. To identify possible deviations of indicators of the hemostatic system such as Willebrand factor and ADAMTS 13 in patients with acute myocardial infarction. **The Methods.** The study group included 7 patients with acute myocardial infarction with ST-segment elevation on the ECG, who registered the maximum value of troponin I on the first day and determined the level of Willebrand factor, the content of the metalloprotease antigen ADAMTS-13, and its activity. **Result.** In the study group, an increase in the level of Willebrand factor above the upper limit of the reference interval was detected both at admission and in the end of the first day, this phenomenon was combined with normal indicators of the activity level of ADAMTS-13 metalloprotease and its antigen. **The conclusion.** The deviations from the reference values in the Willebrand factor-ADAMTS-13 system in patients with acute myocardial infarction are of the clinical and diagnostic interest.

Ключевые слова: фактор Виллебранда, ADAMTS-13, острый инфаркт миокарда, тропонин I.

Keywords: Willebrand factor, ADAMTS-13, acute myocardial infarction, troponin I.

Острый инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST на ЭКГ (ОИМпST) представляет значимую угрозу ввиду сохраняющейся высокой летальности от этой острой формы патологии сердечно-сосудистой системы [1, с.258]. Диагностическая значимость тропонина I при остром инфаркте миокарда (ИМ) известна и является общепризнанным диагностическим критерием [4, с. 2529]. Принимая во внимание тот факт, что основной причиной ИМ является атеросклероз коронарных артерий и развивающийся на этом фоне тромбоз артерии с развитием острой ишемии участка миокарда [3, с.24], изменения в системе гемостаза при острых коронарных событиях, и в частности, уровней плазменных факторов свертывания - фактора Виллебранда (vWF) и расщепляющей его металлопротеазы ADAMTS-13 активно изучается [2, с.471].

Цель: установить возможные отклонения от референсных значений таких показателей гемостаза, как vWF и ADAMTS 13 у пациентов ОИМпST, демонстрирующим максимальными значениями тропонина I в первые сутки.

Материалы и методы: В исследование были включены 7 пациентов с ОИМпST, средний возраст – $61,0 \pm 3,3$ (50-81) года: 6 мужчин и 1 женщина, у которых был зарегистрированы максимальные значения тропонина I в первые сутки. Всем пациентам группы была выполнена коронароангиография, баллонная ангиопластика и стентирование симптом-связанной артерии. В группу вошли больные с верифицированным интракоронарным тромбозом. У 6 обследованных ИМ был зарегистрирован впервые, в одном случае – повторный. У 5 пациентов выявлено повреждение переднебоковой стенки левого желудочка (ЛЖ), у 2 – нижней стенки ЛЖ. У всех пациентов, включенных в исследование при поступлении и через 24 часа, были определены следующие показатели системы свертывания (и использованы референсные интервалы): уровень антигена vWF (vWF:Ag): 50-160%, концентрация антигена металлопротеазы ADAMTS-13: 0,41-1,41 Ме/мл, активность ADAMTS-13: 0,4-1,3.

Результаты. В ходе исследования зарегистрированы значения изучаемых

показателей системы гемостаза у пациентов с ОИМпСТ с максимальным уровнем тропонина I в первые сутки (таблица 1).

Таблица 1. Показатели уровня vWF:Ag, содержания антигена ADAMTS-13, активности ADAMTS-13 при максимальном значении тропонина I в первые сутки

Показатели	При поступлении*	Через 24 часа*
Уровень WF:Ag	237,53± 39,60 (97,7;412,3)	220,38± 23,5(99,7; 288,9)
Концентрация антигена металлопротеазы ADAMTS-13	1,017± 0,058(0,81; 1,29)	1,124± 0,083 (0,73;1,42)
Активность металлопротеазы ADAMTS-13	1,054± 0,118 (0,73; 1,69)	1,214± 0,111(0,86; 1,72)

*Среднее ± стандартная ошибка среднего (минимальное и максимальное значение)

Как видно из представленной таблицы, средние значения vWF:Ag при поступлении и к концу 1 суток у пациентов с ОИМпСТ, у которых зарегистрированы максимальные значения тропонина I в первые сутки, значительно превышали верхнюю границу референсного интервала. У 2 больных показатель находился в пределах референсных значений, у 5 – превышал их уровень. Средние значения концентрации антигена металлопротеазы ADAMTS-13 и ее активности находились в пределах референсных. У 2 пациентов активность ADAMTS-13 при поступлении и к концу 1 суток была выше референсных.

Выводы: у больных ОИМпСТ, имеющих максимальные значения тропонина I в первые сутки, с интракоронарным тромбозом, определяется значимое повышение уровня vWF:Ag, превышающее верхние границы референсного интервала как при поступлении, так и к концу первых суток, что является концептуально обоснованным, учитывая ведущую роль vWF в генезе образования внутрисосудистого тромбов. Указанный феномен сочетался с отсутствием отклонений от референсных средних значений уровня активности металлопротеазы ADAMTS-13 и ее антигена.

Список литературы:

1. Острый инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST электрокардиограммы. Клинические рекомендации 2020. Российское кардиологическое общество, Ассоциация сердечно-сосудистых хирургов России. Российский кардиологический журнал. 2020;25(11):4103. doi:10.15829/1560-4071-2020-4103
2. Колосков А.В., Мангушло А.А. Металлопротеаза ADAMTS-13. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(4): 471–482. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-471-482>
3. Мазур Н.А. Практическая кардиология. – 4-е дополненное издание. Медпрактика-М, 2015. 679 с.
4. Neumann JT, Twerenbold R, Ojeda F, et al. Application of High-Sensitivity Troponin in Suspected Myocardial Infarction. N Engl J Med. 2019;380:2529-2540.

УДК 616.15–07

РОЛЬ КОЛЛАГЕН-СВЯЗЫВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ ФАКТОРА ВИЛЛЕБРАНДА В ДИАГНОСТИКЕ БОЛЕЗНИ ВИЛЛЕБРАНДА 1 ТИПА

Васильева Марина Юрьевна

ассистент кафедры гематологии и трансфузиологии

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им.

И. И. Мечникова» Министерства здравоохранения

Российской Федерации,

РФ, г. Санкт – Петербург

E-mail: marina.vasileva@szgmu.ru

Колосков Андрей Викторович

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гематологии и

трансфузиологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский

университет им. И. И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской

Федерации; РФ, г. Санкт – Петербург

E-mail: andrei.koloskov@szgmu.ru

ROLE OF COLLAGEN-BINDING ABILITY OF WILLEBRAND FACTOR IN DIAGNOSTICS OF WILLEBRAND'S DISEASE TYPE 1

Marina Vasileva

*Assistant at the Department of Hematology and Transfusiology North-Western State
Medical University named after I.I. Mechnikov Saint – Petersburg,
Russia, Saint – Petersburg
E-mail: marina.vasileva@szgmu.ru*

Andrei Koloskov

*Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Hematology and
Transfusiology North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov,
Russia, Saint – Petersburg
E-mail: andrei.koloskov@szgmu.ru*

Аннотация.

Целью настоящего исследования было изучить диагностическую значимость тестов vWF:СВА-I и vWF:СВА-III, наряду с vWF:Ag, vWF:RCo, FVIII:C. Для этого было обследовано 135 пациенток разного возраста с использованием клинико-лабораторных и статистических методов исследования. В результате чего было установлено, что в 97% случаев имеет место снижение vWF:СВА-I, в 84% - vWF:Ag, в 47% - FVIII:C, в 31% - vWF:СВА-III и в 28% - vWF:RCo. Поэтому мы предполагаем, что анализ vWF:СВА-I можно рекомендовать использовать как в совокупности с измерением активности других факторов, так и независимо от них.

Abstract.

The aim of this study was to investigate the diagnostic value of the vWF:СВА-I and vWF:СВА-III tests, along with vWF:Ag, vWF:RCo, FVIII:C. For this, 135 patients of different ages were examined using clinical, laboratory and statistical research methods. As a result, it was found that in 97% of cases there is a decrease in vWF:СВА-I, in 84% - vWF:Ag, in 47% - FVIII:C, in 31% - vWF:СВА-III and in 28% - vWF:RCo. Therefore, we assume that the VWF:СВА-I analysis can be recommended to be used both in conjunction with the measurement of the activity of other factors, and independently of them.

Ключевые слова: диагностика; болезнь Виллебранда; коллаген-связывающая способность фактора Виллебранда с коллагеном I типа.

Keywords: diagnostics; von Willebrand disease; vWF:CBA-I.

Болезнь Виллебранда является достаточно распространенным наследственным нарушением свертывающей системы крови. Клинически обычно проявляется кожно-слизистыми кровотечениями (носовые и меноррагии), а также продолжительной геморрагией после операции или травмы. На сегодняшний день болезнь Виллебранда традиционно подразделяют на 1 и 3 типы, показывающие от легкой до средней и тяжелой степени количественные недостатки vWF, соответственно, и тип 2, который характеризуется качественным дефицитом vWF [2, p.2029–2037]. В настоящем исследовании у всех 135 пациенток диагностирована болезнь Виллебранда 1 типа.

Болезнь Виллебранда 1 типа наиболее распространенная и самая легкая форма заболевания с аутосомно-доминантным наследованием. Распространенность данного типа в разных источниках литературы оценивается от 60% до 85% [1, p.199–217]. При данном типе заболевания происходят количественные изменения функционально нормального vWF в сопровождении признаков геморрагического диатеза. Наряду со снижением vWF:Ag, может наблюдаться сниженный уровень FVIII:C, vWF:RCo, также отмечено, что в подавляющем большинстве случаев снижался показатель vWF:CBA-I, в меньшей степени vWF:CBA-III. В связи с этим проведено настоящее исследование, в котором была обозначена важная роль диагностического теста оценки vWF:CBA-I.

Исследование vWF:Ag, vWF:RCo и FVIII:C проводилось на автоматическом коагулометре Elite Pro (США) с использованием реагентов HemosiL. Исследования и VWF:CBA-III выполнялось методом ИФА с помощью иммуноферментного анализатора Tecan Infinite F50 (США) с использованием реагентов Technoclone.

В основную группу были включены 135 пациенток с проявлениями геморрагического диатеза (согласно стандартному опроснику для оценки кровотечений), 113 пациенток без признаков геморрагического диатеза составили группу сравнения. У всех были изучены показатели vWF:Ag, FVIII:C, vWF:RCo, vWF:CBA-I, vWF:CBA-III. В 64 случаях, где имело место снижение

vWF:Ag и/или FVIII:C, и/или vWF:RCo одновременно с vWF:СВА-I и/или vW-F:СВА-III, диагностическая значимость vWF:СВА-I составила 97%, в то время как у vWF:Ag она была 84%, у FVIII:C 47%, у vWF:СВА-III 31% и, наконец, у vWF:RCo в 28%. В 71 случае привычные показатели vWF:Ag, FVIII:C, vW-F:RCo находились в пределах референсных значений, в то время как снижение vWF:СВА-I отмечалось в 96% случаев, а снижение vWF:СВА-III в 15%. В связи с этим сделано предположение, что метод оценки vWF:СВА-I является весьма чувствительным и специфичным тестом для диагностики болезни Виллебранда 1 типа. Для подтверждения этого факта повторно оценили показатели vWF:Ag, FVIII:C, vWF:RCo у 71 пациентки с изначально нормальными значениями и было выявлено, что у 30% из них снизился показатель vWF:Ag, у 9%-FVIII:C и у 4%-vWF:RCo.

Таким образом, мы считаем, что проведение оценки vWF:СВА-I представляется разумным в пределах дифференциально-диагностического поиска у пациентов с признаками чрезмерной кровоточивости. Данный метод можно использовать как самостоятельно, так и в совокупности с другими методиками определения показателей свертывающей системы крови.

В ходе научно-практической работы была получена информация, позволяющая повысить качество диагностики болезни Виллебранда, снизить риск постановки неправильного диагноза у пациентов с признаками геморрагического диатеза, а также был разработан алгоритм выявления геморрагических состояний. По результатам исследования подготовлены методические рекомендации для врачей гематологов, трансфузиологов, акушеров – гинекологов, терапевтов, хирургов, врачей общей практики.

Список литературы:

1. Laffan M, Brown SA, Collins PW, et al. The diagnosis of von Willebrand disease: a guideline from the UK Haemophilia Centre Doctors' Organization. Haemophilia, 2004. P. 199–217.
2. Ng C., Motto D.G., Di Paolo J. Diagnostic approach to von Willebrand disease. Blood, 2015. P. 2029–2037.

**ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ
ADAMTS-13 В ОЦЕНКЕ РИСКОВ РАЗВИТИЯ ТРОМБОТИЧЕСКИХ
СОБЫТИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ**

Колосков Андрей Викторович

*д.м.н., профессор, зав.кафедрой гематологии и трансфузиологии
ФГБОУВО «Северо-Западного государственного медицинского университета
им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ, РФ, г. Санкт-Петербург
E-mail: andrei.koloskov@szgmu.ru*

Мангушло Александр Александрович

*аспирант кафедры гематологии и трансфузиологии
ФГБОУВО «Северо-Западного государственного медицинского университета
им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ, РФ, г. Санкт-Петербург
E-mail: sutura@mail.ru*

**PROGNOSTIC VALUE OF METALLOPROTEINASE ADAMTS-13 IN
RISK ASSESSMENT OF THROMBOTIC EVENTS IN PATIENTS WITH
ACUTE CORONARY SYNDROME**

Andrei Koloskov

*D. M., Professor, Head Department of Hematology and Transfusiology of the
FSBEIHE “Northwest State Medical University named after I.I. Mechnikov”
of the Ministry of Health of the Russian Federation, Russia, St. Petersburg
E-mail: andrei.koloskov@szgmu.ru*

Alexander Mangushlo

*Graduate student of the Department of Hematology and Transfusiology of the
FSBEIHE “Northwest State Medical University named after I.I. Mechnikov”
of the Ministry of Health of the Russian Federation, Russia, St. Petersburg
E-mail: sutura@mail.ru*

Аннотация.

Цель исследования - улучшить результаты стратификации рисков развития

тромботических и геморрагических событий у пациентов с острым коронарным синдромом. В исследование включено 90 пациентов. Высокий уровень показателя активности ADAMTS-13 является самостоятельным фактором благоприятного прогноза, ассоциированным с меньшим риском развития тромбоза коронарных артерий, при этом у пациентов с повышенной активностью ADAMTS-13 не отмечается увеличение частоты геморрагических осложнений. Высокий уровень показателя активности фактора Виллебранда является самостоятельным критерием неблагоприятного прогноза, ассоциированным со значительным риском развития тромбоза коронарных артерий.

Abstract.

The aim of the study is to improve the results of stratification of risks of thrombotic and hemorrhagic events in patients with acute coronary syndrome. The study included 90 patients. A high rate of ADAMTS-13 activity is an independent factor of favorable prognosis associated with a lower risk of coronary artery thrombosis, with patients with a high rate of ADAMTS-13 activity not showing an increase in the incidence of hemorrhagic complications. A high level of Willebrand factor activity score is an independent non-favorable prognosis factor associated with a higher risk of coronary artery thrombosis.

Ключевые слова: металлопротеиназа ADAMTS-13, фактор Виллебранда, острый коронарный синдром.

Keywords: metalloproteinase ADAMTS-13, Willebrand factor, acute coronary syndrome.

Существует предположение, что дисбаланс плазменных уровней фактора Виллебранда и протеазы ADAMTS-13 может предрасполагать к сердечно-сосудистым заболеваниям [1, с.482, 2, с.256]. В исследование включено 90 пациентов, госпитализированных в СПб ГБУЗ «Городская больница № 26» с диагнозом острый коронарный синдром. Всем пациентам пятикратно выполнялось исследование активности металлопротеиназы ADAMTS-13 и активности фактора Виллебранда (при поступлении, на первые, третьи и пятые сутки). При выполнении клинико-лабораторного сопоставления пациенты были

разделены на две группы: с верифицированным интракоронарным тромбозом и с атеросклеротическим поражением коронарного русла без интракоронарного тромбоза. У больных с острым коронарным синдромом, протекающим без тромбоза коронарных артерий, активность протеазы ADAMTS-13 достоверно выше таковой при сравнении с группой с развившимся тромбозом коронарных артерий, сохраняется на высоком уровне весь период наблюдения (пять суток) и достигает максимального уровня на третьи сутки от момента развития ангинозного приступа. Различия между группами пациентов были статистически достоверны. У 50% обследованных с острым коронарным синдромом выявлено увеличение показателя активности протеазы ADAMTS-13, выходящее за пределы референсных значений, достигающее максимума у пациентов без тромбоза коронарных артерий в период 1–3 суток от момента развития ангинозного приступа ($1,66 \pm 0,03$ МЕ и $1,73 \pm 0,02$ МЕ, соответственно) и достоверно отличающееся от аналогичных показателей в группе с тромбозом коронарных артерий ($1,48 \pm 0,03$ МЕ и $1,59 \pm 0,02$ МЕ, соответственно). У пациентов с острым коронарным синдромом, протекающим с тромбозом коронарных артерий, активность фактора Виллебранда достоверно выше таковой при сравнении с группой без тромбоза коронарных артерий, при этом максимальные и минимальные значения этого показателя отмечаются при госпитализации больного ($213,1 \pm 10,8$ МЕ и $138,9 \pm 5,51$ МЕ для группы с тромбозом и без тромбоза, соответственно). Высокий уровень активности протеазы ADAMTS-13 расценивается как самостоятельный прогностический фактор меньшего риска развития тромбоза коронарных артерий, в то время как высокий уровень активности фактора Виллебранда, особенно в течение первых суток от момента развития ангинозного приступа, является самостоятельным фактором риска развития тромбоза коронарных артерий.

Список литературы:

1. Колосков А.В., Мангушло А.А. Металлопротеаза ADAMTS-13/Гематология и трансфузиология, 2019. 64(4). С.471– 482. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-471-482>
2. Колосков А.В., Чернова Е.В. Клиническое значение полиморфизма генов фактора V и протромбина/ Гематология и трансфузиология, 2018. 63(3). С.250-257. <https://doi.org/10.25837/HAT.2019.63.13.004>

**МУТАЦИИ ГЕНА ФАКТОРА V (ЛЕЙДЕН) И ГЕНА ПРОТРОМБИНА
G20210A НЕ ИМЕЮТ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ИЛИ
ПРОГНОСТИЧЕСКОГО ЗНАЧЕНИЯ**

Колосков Андрей Викторович

*д.м.н., профессор, заведующий кафедрой гематологии и трансфузиологии
Северо-Западного государственного медицинского университета*

имени И.И. Мечникова, РФ, г. Санкт-Петербург

E-mail: Andrei.Koloskov@szgmu.ru

Чернова Екатерина Владимировна

к.м.н., ассистент кафедры гематологии и трансфузиологии

Северо-Западного государственного медицинского университета

имени И.И. Мечникова, РФ, г. Санкт-Петербург

E-mail: Ekaterina.Chernova@szgmu.ru

**MUTATIONS OF FACTOR V GENE (LEIDEN) AND PROTHROMBIN
G20210A GENE DO NOT HAVE DIAGNOSTIC OR PROGNOSTIC VALUES**

Andrei Koloskov

*Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Hematology and Transfusiology,
North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*

Russia, St. Petersburg

E-mail: Andrei.Koloskov@szgmu.ru

Ekaterina Chernova

PhD, Assistant, Department of Hematology and Transfusiology,

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov

Russia, St. Petersburg

E-mail: Ekaterina.Chernova@szgmu.ru

Аннотация.

Цель. Обобщить новую научную информацию о клиническом значении полиморфизмов FV G1691A и FII G20210A. Методы. Выполнены анализ научных

публикаций и исследования встречаемости данных полиморфизмов среди здоровых женщин и у пациенток с болезнью Виллебранда 1 типа. Результаты. Выявлена высокая частота встречаемости обсуждаемых полиморфизмов в исследованных популяциях и продемонстрировано отсутствие их влияния на выраженность геморрагического диатеза. Выводы. Полиморфизмы FV G1691A и FII G20210A не имеют диагностического и прогностического значения.

Abstract.

Background. Summarize new scientific information on the clinical significance of the FV G1691A and FII G20210A polymorphisms. **Methods.** The analysis of scientific publications and studies of the occurrence of these polymorphisms among healthy women and in patients with von Willebrand disease type 1 were performed. **Results.** A high frequency of occurrence of the discussed polymorphisms in the studied populations was revealed and the absence of their influence on the severity of hemorrhagic diathesis was demonstrated. **Conclusions.** Polymorphisms FV G1691A and FII G20210A do not have diagnostic and prognostic significance.

Ключевые слова: мутация FV G1691A; мутация FII G20210A; клиническое значение.

Keywords. mutation FV G1691A; mutation FII G20210A; clinical significance.

Точечные мутации в генах гемостатических белков, а именно, замена гуанина на аденин в позиции 1691 гена фактора свертывания крови V (FV G1691A), приводящая к замене аргинина на глутамин в позиции 506 в самом белке и замена гуанина на аденин в позиции 20210 в нетранслируемой области промотора гена фактора свертывания крови II (FII G20210A), рассматривались с начала 90-х годов прошлого века как основные кандидаты для объяснения развития спонтанных, не связанных с иными видимыми причинами тромбозов. Несколько позже данные полиморфизмы стали рассматриваться как генетическая причина для репродуктивных неудач у женщин [1, с. 250].

В выполненной нами серии исследований [2, с. 682; 3, с. 61] была продемонстрирована высокая встречаемость обсуждаемых полиморфизмов у здоровых доноров крови, демонстрирующих бессобытийную выживаемость, и

у женщин с болезнью Виллебранда 1 типа. При этом нами продемонстрировано отсутствие видимого влияния данных полиморфизмов на степень выраженности геморрагического диатеза [3, с. 61].

Современное представление о структуре и функции свертывающей системы крови человека [4, с. 6; 5, с. 73; 6, с. 471] также позволяет сделать вывод о том, что полиморфизмы FV G1691A и FII G20210A не имеют диагностического и прогностического значения.

Список литературы:

1. Колосков А.В., Чернова Е. В. Клиническое значение полиморфизма генов фактора V и протромбина // Гематология и трансфузиология. 2018. Т. 63. № 3. С. 250-257. doi: 10.25837/НАТ.2019.63.13.004
2. Колосков А.В., Филиппова О.И., Лыщев А.А. и др. Частота встречаемости гена фактора V (A506G), гена протромбина (G20210A) и гена MTHFR (C677T и A1298C) у здоровых доноров крови Санкт-Петербурга // Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. 2015. Т. 16. № 3. С. 682-689.
3. Колосков А.В., Чернова Е.В. Распространенность мутации гена фактора V (Лейден) и гена протромбина G20210A у женщин с болезнью Виллебранда 1-го типа // Гематология и трансфузиология. 2019; Т. 64. № 1. С. 61–66. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-1-61-66>
4. South K., Lane D.A. ADAMTS-13 and von Willebrand factor: a dynamic duo // J. Thromb. Haemost. 2018. V. 16. P. 6–18. DOI: 10.1111/jth.13898
5. Чернова Е.В. Фактор Виллебранда // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. 2018. Т. 10. № 4. С. 73–80. <https://doi.org/10.17816/mechnikov201810473-80>
6. Колосков А.В., Мангушло А.А. Металлопротеаза ADAMTS-13 // Гематология и трансфузиология. 2019. Т. 64. № 4. С. 471–482. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-4-471-482>

ОСОБЕННОСТИ ЛИМФОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНОЙ АГРЕГАЦИИ У ДОНОРОВ КРОВИ И ЕЕ КОМПОНЕНТОВ

Кардовский Александр Георгиевич

*к.м.н., ст.н.с., с.н.с. лаборатории клеточных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: al. cardovskiy@yandex. ru*

Шардаков Виктор Иванович

*д.м.н., профессор, в.н.с. лаборатории клеточной и молекулярной иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: vic-schardakov@mail.ru*

Шерстнев Филипп Сергеевич

*к.м.н., зав. отделением трансфузиологии и процессинга ГСК Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: sherstnyov_phil@mail.ru*

Ковтунова Марина Евгеньевна

*к.м.н., доцент, ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: kovtunova@niigpk.ru*

FEATURES OF LYMPHOCYTIC-PLATELET AGGREGATION OF BLOOD DONORS AND BLOOD COMPONENTS

Alexander Kardovsky

candidate of Medical Sciences, associate Professor, senior researcher of the Labora-

tory of Cellular Technologies, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: al. cardovscky@yandex. ru

Victor Schardakov

professor, doctor of Medical Sciences, leading researcher of the Laboratory of Cellular and Molecular Immunology, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: vic-schardakov@mail.ru

Phillipp Sherstnev

candidate of Medical Sciences, Head of the Department of Transfusiology and Processing of Hematopoietic Blood Stem Cells, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: sherstnyov_phil@mail.ru

Marina Kovtunova

candidate of Medical Sciences, associate Professor, scientific Secretary, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: kovtunova@niigpk.ru

Аннотация.

Цель работы - оценка состояния лимфоцитарно-тромбоцитарной агрегации у доноров крови с учетом их гендерно-возрастных характеристик. Исследования выполнены у 374 доноров крови с использованием лимфоцитарно-тромбоцитарной агрегации по методу Витковского Ю.А. Выявлена информативность исследуемых показателей, отражающих и функциональное состояние клеток иммунной системы, и тромбоцитарное звено гемостаза.

Abstract.

The purpose of the work is to assess the state of lymphocyte-platelet aggregation of blood donors taking into account their gender-age characteristics. Studies were per-

formed in 374 blood donors using of lymphocyte-platelet aggregation by the method of Witkovsky Yu.A. Informativity of the analysed indices reflecting both functional state of immune system cells and platelet link of hemostasis is revealed.

Ключевые слова: доноры крови; лимфоцитарно-тромбоцитарная агрегация.

Keywords: blood donors; lymphocyte-platelet aggregation.

Оценка состояния здоровья доноров сохраняет свою актуальность. Углубленные исследования перед кроводачей позволяют выявить сдвиги в функционировании различных систем организма, в том числе иммунной и свертывающей [1, с. 118], [2, с. 16]. Участие в донорстве лиц с нарушениями данных систем может оказать отрицательное воздействие на их адаптационные возможности. Кроме того, можно предположить, что кровь и плазма, полученные от таких доноров, не являются физиологически полноценными. Согласно требованию экспертов Совета Европы по службе крови, необходимо внимательно относиться ко всем изменениям лабораторных показателей у доноров [3, с. 212].

В последние годы выявлена взаимосвязь между гемостатическими и воспалительными реакциями, где ключевым звеном выступает взаимодействие лимфоцитов, тромбоцитов и эндотелиальных клеток. Лимфоциты способны к спонтанному образованию коагратов с тромбоцитами. Этот процесс можно смоделировать в лабораторных условиях, используя феномен лимфоцитарно-тромбоцитарной агрегации (ЛТА) и подсчета числа лимфоцитарно-тромбоцитарных розеток (ЛТР) [4, с. 747]. Способностью взаимодействовать с тромбоцитами преимущественно обладают CD3⁺ CD4⁺ клетки, а также CD16⁺ (натуральные киллеры). Несомненно, что активность ЛТА зависит от 2 факторов: функционального состояния кровяных пластинок, а также экспрессии рецепторов на указанных иммунокомпетентных клетках (ИКК). Исходя из изложенного, тест лимфоцитарно-тромбоцитарной агрегации является дополнительным информативным показателем, позволяющим определять функциональное состояние иммунной и свертывающей систем у доноров.

Цель. Оценить состояние лимфоцитарно-тромбоцитарной агрегации у доноров крови и ее компонентов в зависимости от возраста и пола.

Метод. Обследованы 374 донора крови и ее компонентов в возрасте от 20 до 66 лет, у которых определяли лимфоцитарно-тромбоцитарную агрегацию по методу Витковского Ю.А. Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента с помощью пакета программ Microsoft Excel.

Результат. Изменения показателей ЛТА у доноров крови ее компонентов представлены в таблице 1.

Таблица 1. Показатели лимфоцитарно-тромбоцитарной агрегации у доноров крови и ее компонентов в зависимости от возраста и пола

Доноры	Возраст	Количество наблюдений	Спонтанная агрегация, %	Отмытые лимфоциты, %
	до 45 лет	293	10,5±0,31	16,5±0,39
	старше 45 лет	81	9,8±0,46	15,2±0,57
женщины	до 45 лет	118	11,1±0,38	16,4±0,43
	старше 45 лет	43	9,7±0,61	14,2±0,67 *
мужчины	до 45 лет	175	10,9±0,32	16,4±0,36
	старше 45 лет	38	9,1±0,55 *	13,6±1,11 *

Примечание: * - достоверность различий показателей между сравниваемыми группами ($p < 0,05$)

Из приведенных в таблице данных видно, что у доноров в возрасте до 45 лет показатели теста ЛТА оказались выше, чем значения в более старшей группе. Полученные данные несколько отличаются от результатов исследования числа ЛТА, представленных другими авторами, которые в общем пуле лимфоцитов у здоровых людей выявили 14,0±1,0% позитивных клеток в адгезивном ЛТА тесте [4, с. 749]. Необходимо отметить, что авторы не приводят возрастные колебания этого показателя, и определения выполнены в другом регионе России (Читинская область). В наших исследованиях, с учетом возраста доноров, различия показателей ЛТА наблюдались не только в спонтанном тесте, но и в его варианте с отмытыми иммунокомпетентными клетками. Более высокие значения ЛТА при отмывании лимфоцитов связаны, на наш взгляд, с тем, что на этих клетках происходит восстановление адгезивных молекул, заблокированных в иммунных процессах, а состояние этих молекул — основа теста ЛТА.

Вывод. Одним из дополнительных критериев оценки состояния здоровья доноров может служить тест ЛТА, который характеризует, с одной стороны, функциональное состояние клеток иммунной системы, с другой — тромбоцитарное звено гемостаза.

Список литературы:

1. Яворский В.В. Характеристика иммунологического статуса доноров плазмафереза //Трансфузиология, 2014. Т. 15, №2. С. 116-118.
2. Макаров М.С., Кобзева Е.Н., Высочин И.В. Анализ морфофункционального статуса тромбоцитов у доноров разных групп: портрет «идеального донора» тромбоцитных компонентов // Трансфузиология, 2016. Т. 17, №2. С. 15-28.
3. Совет Европы. Руководство по приготовлению, использованию и обеспечению качества компонентов крови. Женева, 2011. 16-е изд. 490 с.
4. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии //Медицинская иммунология, 2006. Т. 8, № 5-6. С. 745-753.

УДК 616.151.514

БОЛЕЗНЬ ВИЛЛЕБРАНДА У ПАЦИЕНТОВ С НОСОВЫМИ КРОВОТЕЧЕНИЯМИ

Филиппова Ольга Ильинична

*к.м.н., доцент кафедры гематологии и трансфузиологии
Северо-Западного государственного медицинского университета
имени И.И. Мечникова, РФ, г. Санкт-Петербург
E-mail: Olga.Filippova@szgmu.ru*

Колосков Андрей Викторович

*д.м.н., профессор, заведующий кафедрой гематологии и трансфузиологии
Северо-Западного государственного медицинского университета
имени И.И. Мечникова, РФ, г. Санкт-Петербург
E-mail: Andrei.Koloskov@szgmu.ru*

WILLEBRAND'S DISEASE IN PATIENTS WITH EPISTAXIS

Olga Filippova

*PhD, Associate Professor, Department of Hematology and Transfusiology,
North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*

Russia, St. Petersburg

E-mail: Olga.Filippova@szgmu.ru

Andrei Koloskov

*Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Hematology and Transfusiology,
North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*

Russia, St. Petersburg

E-mail: Andrei.Koloskov@szgmu.ru

Аннотация.

Целью исследования явилось изучение частоты болезни Виллебранда как причины экстренной госпитализации пациентов с носовыми кровотечениями. Метод. В исследование включены пациенты с носовыми кровотечениями, госпитализированные в отоларингологическое отделение. Результаты. Выявлена высокая частота встречаемости болезни Виллебранда в исследуемой группе пациентов, продемонстрированы гендерные особенности проявления геморрагического диатеза. Выводы. Своевременная диагностика коагулопатий позволит избежать развития геморрагических событий вследствие антитромботической терапии.

Abstract.

The aim of our study was to study the frequency of Willebrand's disease as a cause of emergency hospitalization of patients with epistaxis. The study included patients with epistaxis who were hospitalized in the otolaryngology department.

Results. The high frequency of occurrence of Willebrand's disease in the study group of patients was revealed and the gender features of the hemorrhagic diathesis were demonstrated.

Conclusions. Timely diagnosis of coagulopathies will help to avoid the development of hemorrhagic events due to antithrombotic therapy.

Ключевые слова: носовые кровотечения; болезнь Виллебранда; госпитализация.

Keywords: epistaxis; Willebrand's disease; hospitalization.

Болезнь Виллебранда - наследственное нарушение свертывающей системы крови, обусловленное волнообразным количественным и/или качественным дефицитом фактора Виллебранда. Геморрагический диатез при болезни Виллебранда характеризуется выраженной полиморфностью клинических проявлений. Одним из них могут являться длительные носовые кровотечения без признаков травмы, не останавливающиеся в течение 20 минут при сжатии [1,2].

В выполненном исследовании продемонстрирована высокая встречаемость данной коагулопатии среди больных отоларингологического отделения с носовыми кровотечениями. У пациентов мужского пола болезнь Виллебранда диагностирована в 22%, у женщин - 32,3% случаях.

Результаты изучения геморрагического анамнеза показали, что у большинства пациентов мужского пола единственной жалобой оказались носовые кровотечения. У 10 обследованных они отмечались в детском возрасте. Геморрагическая наследственность присутствовала в 18,3% наблюдений.

Изучение анамнеза у женщин с носовыми кровотечениями выявило, что таковые были лишь одной из жалоб геморрагического характера. В исследуемой группе 51,2% пациенток отмечали также образование синяков без видимой причины, 48,8% охарактеризовали менструальные кровопотери как чрезмерные. У 2 пациенток носовые кровотечения были в детском возрасте. Геморрагическая наследственность отмечалась в 25,6% случаях.

Опрос, проведенный в исследуемых группах, показал, что 62% пациентов мужского пола и 34,9% женского из исследуемой группы получали антиагрегантную терапию, что спровоцировало эпизод кровотечения.

Таким образом, проведенное исследование выявило значительную долю болезни Виллебранда в группе пациентов с носовыми кровотечениями, госпитализированных в отоларингологическое отделение, у большинства которых кровотечение было спровоцировано назначением антиагрегантной терапии. Полученные данные позволяют делать вывод о том, что своевременная

диагностика коагулопатий с учетом гендерных особенностей проявлений заболевания позволит избежать развития геморрагических осложнений.

Список литературы:

1. Колосков А.В. Болезнь Виллебранда // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. – 2017. – Т. 19. – № 11. – С. 43-48.
2. Holm E., Steen Carlsson K., Lövdahl S. Bleeding- related hospitalization in patients with von Willebrand disease and the impact of prophylaxis: Results from national registers in Sweden compared with normal controls and participants in the von Willebrand Disease Prophylaxis Network // Haemophilia, 2018. V.24. P.1–6. DOI: 10.1111/hae.13473

УДК 616-006.441:616-005.6

ОЦЕНКА КОАГУЛЯЦИОННОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА У ПЕРВИЧНЫХ БОЛЬНЫХ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Фокина Елена Сергеевна

*кандидат медицинских наук, заместитель начальника
отдела организации и сопровождения научных исследований
ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт
гематологии и переливания крови Федерального медико-
биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: fokina@niigpk.ru*

Игнатьев Сергей Викторович

*кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник
отдела организации и сопровождения научных исследований
ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт
гематологии и переливания крови Федерального медико-
биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: ignatyev@niigpk.ru*

Лянгузов Алексей Владимирович
*кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник
отдела организации и сопровождения научных исследований
ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт
гематологии и переливания крови Федерального медико-
биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: lyanguzov@niigpk.ru*

ASSESSMENT OF COAGULATION IN PRIMARY PATIENTS WITH NON-HODGKIN LYMPHOMAS

Elena Fokina
*PhD, Deputy Head of the Department of Organization
and Support of Scientific Research, The Federal State-Financed
Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology
and Blood Transfusion under the Federal Medicobiological
Agency, Russia, Kirov
E-mail: fokina@niigpk.ru*

Sergey Ignatyev
*PhD, Senior Researcher of the Department of Organization
and Support of Scientific Research, The Federal State-Financed
Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology
and Blood Transfusion under the Federal Medicobiological
Agency, Russia, Kirov
E-mail: ignatyev@niigpk.ru*

Alexey Lyanguzov
*PhD, Senior Researcher of the Department of Organization
and Support of Scientific Research, The Federal State-Financed
Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology
and Blood Transfusion under the Federal Medicobiological
Agency, Russia, Kirov
E-mail: lyanguzov@niigpk.ru*

Аннотация.

Цель. Оценить показатели гиперкоагуляции (ГК) у больных лимфопролиферативными заболеваниями (ЛПЗ) в дебюте заболевания. Методы. Скрининговые тесты коагулограммы (СТК), D-димеры, тест «Тромбодинамика» (ТД) выполнены у 74 больных ЛПЗ в дебюте заболевания. Результаты. Достоверных изменений СТК не выявлено. Тест ТД показал исходную ГК у больных ЛПЗ, наиболее выраженную у пациентов старше 60 лет и при III–IV стадии заболевания. Выводы. ТД эффективно диагностирует ГК у больных ЛПЗ, которую у лиц старше 60 лет и при III–IV стадии заболевания необходимо учитывать в определении риска тромбоэмболических осложнений (ТЭО).

Abstract.

The aim - to study the hypercoagulation (HC) in Non-Hodgkin lymphoma (NHL) patients at the debut of the disease. Screening coagulation tests (SCT), D-dimers, Thrombodynamics test (TD) were investigated in 74 patients with NHL. There are no significant changes in SCT were found. The TD test revealed the initial HC in patients with NHL mostly expressed in patients older than 60 years old and at III-IV stages of NHL. TD effectively reveals HC in patients with NHL and should be used in determining of the thromboembolic risk in patients with NHL.

Ключевые слова: лимфопролиферативные заболевания; гиперкоагуляция; «тромбодинамика».

Keywords: Non-Hodgkin lymphomas; hypercoagulation; «thrombodynamics» test.

Введение

Течение ЛПЗ связано с высоким риском ТЭО, частота развития которых достигает 10–15%, а при поражении ЦНС или средостения значительно возрастает [6, с. 3]. В соответствии с теорией Вирхова одной из важнейших предпосылок возникновения тромбоза является ГК [8, с. 227]. Значимость отдельных протромботических изменений окончательно не определена [7, с. 309]. В клинической практике нередко встречаются ситуации, когда протромботические сдвиги (увеличение концентрации Д-димеров, снижение уровня антикоагулянтов)

сочетаются с гипокоагуляционными нарушениями (дефицит факторов свертывания крови, тромбоцитопения), что затрудняет общую оценку состояния системы гемостаза. В этих случаях незаменимыми оказываются интегральные тесты оценки гемостаза, такие, как ТД, тромбоэластография, тест генерации тромбина и др. [1, с. 15; 4, с. 106; 5, с. 4]. Несмотря на то, что выявление ГК включено в алгоритм профилактики ТЭО при гемобластозах [3, с. 1183], влияние выраженности ГК, возраста пациентов и стадии опухолевого процесса на частоту развития ТЭО изучены недостаточно, что затрудняет адекватную оценку степени их риска.

Цель. Оценить показатели гиперкоагуляции у больных ЛПЗ в дебюте заболевания в зависимости от возраста и стадии заболевания.

Материалы и методы. В исследование включены 74 пациента в дебюте ЛПЗ, лечившихся в клинике ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России. Среди них 28 (38%) женщин и 46 (62%) мужчин. Медиана возраста – 52 года (31-80 лет). Группу сравнения составили 207 доноров, сопоставимых по полу и возрасту с пациентами моложе 60 лет. Больных в обследуемой группе разделили по возрасту (моложе и старше 60 лет) и стадии заболевания (I-II и III-IV). Для скрининга коагуляционного гемостаза определяли АЧТВ, протромбиновое время по Квику (ПВ), тромбиновое время (ТВ), концентрацию фибриногена (Ф) и D-димеров. Тест ТД использовался для глобальной оценки состояния гемостаза.

Результаты. Показатели коагулограммы в обследуемой группе: АЧТВ – $26,3 \pm 1,69$ сек, ТВ – $14,1 \pm 1,74$ сек, ПВ – $96,2 \pm 2,67\%$, Ф – $3,7 \pm 0,58$ г/л, D-димеры – $0,32 \pm 0,12$ мкг/мл. В группе сравнения: АЧТВ – $29,1 \pm 0,28$ сек, ТВ – $15,2 \pm 0,04$ сек, ПВ – $86,1 \pm 0,68\%$, Ф – $3,3 \pm 0,03$ г/л, D-димеры – $0,28 \pm 0,05$ мкг/мл. Достоверных различий показателей в группах не выявлено. При оценке ТД установлены значимые различия скоростных показателей роста сгустка у больных ЛПЗ по сравнению с донорами (начальная скорость роста сгустка (V_i) – $51,7 \pm 1,4$ и $48,3 \pm 0,3$ мкм/мин., стационарная скорость роста сгустка (V_s) – $32,3 \pm 1,3$ и $25,5 \pm 0,2$ мкм/мин). У пациентов старше 60 лет отмечена более выраженная гиперкоагуляция (V_i – $62,5 \pm 0,3$ мкм/мин., V_s – $34,8 \pm 0,1$ мкм/мин, размер сгустка (C_s) – $1286,4 \pm 36,64$ мкм) по сравнению с молодыми (V_i – $61,4 \pm 0,3$ мкм/мин., V_s – $33,8 \pm 0,3$ мкм/мин, C_s – $1170,4 \pm 29,13$ мкм) ($p < 0,05$). Частота образования спонтанных сгустков у больных ЛПЗ старше 60 лет, свидетельствующая о выраженной гиперкоагуляции [2, с.124], составила 27%.

Обнаружены значимые различия показателей ТД у лиц с III-IV стадиями ЛПЗ по сравнению с пациентами, имеющими I-II стадии ($V_i - 61,3 \pm 0,1$ и $57,3 \pm 0,2$ мкм/мин ($p < 0,05$), $V_s - 35,5 \pm 0,2$ и $29,1 \pm 0,02$ мкм/мин соответственно ($p < 0,001$).

Заключение. Результаты ТД у больных ЛПЗ в дебюте заболевания свидетельствуют о наличии гиперкоагуляционных нарушений, которые более выражены у пациентов старше 60 лет, а также при III-IV стадиях заболевания. Скрининговые тесты коагулограммы при определении риска развития ТЭО оказались менее информативны, чем ТД.

Список литературы:

1. Атауллаханов Ф. И., Баландина А. Н., Варданян Д. М. и др. Применение теста тромбодинамики для оценки состояния системы гемостаза: Учебно-методические рекомендации / Под ред. д-ра мед. наук, проф. А. М. Шулутко. М., 2015. 72 с.
2. Баландина А.Н., Кольцова Е.М., Шибeko А.М., Купраш А.Д., Атауллаханов Ф.И. Тромбодинамика: новый подход к диагностике нарушений системы гемостаза // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии, 2018; № 4. С. 114-126.
3. Васильев С.А., Марголин О.В., Моисеева Т.Н., Аль-Ради Л.С., Кравченко С.К. Профилактика тромботических нарушений при проведении химиотерапии. В кн.: Савченко В.Г. (ред.) Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. М.: Практика, 2018: С. 1181-1189.
4. Лянгузов А.В., Калинина С.Л., Игнатьев С.В., Докшина И.А., Буланов А.Ю., Минаева Н.В., Парамонов И.В. Особенности вязко-эластических свойств сгустка крови и проявления геморрагического синдрома при тромбоцитопении у онкогематологических больных // Тромбоз, гемостаз и реология, 2020. № 4. С. 102-108.
5. Папаян Л. П., Головина О.Г., Чечеткин А.В. и др. Алгоритм диагностики гемостаза и мониторинг антитромботической терапии: методические рекомендации. СПб.: Агентство "ВиТ-принт", 2016. 20 с.
6. Nohaus S., Bartolomei F., Cuccaro A., Maiolo E., Alma E., D'Alò F., Bellesi S., Rossi E., De Stefano V. Venous Thromboembolism in Lymphoma: Risk Strat-

- ification and Antithrombotic Prophylaxis // *Cancers (Basel)*, 2020. №5. P. 1291.
7. Loreto M. F., Martinis D. E., Corsi M. P. Coagulation and cancer: implications for diagnosis and management // *Pathol. Oncol. Res.*, 2000. №4: P. 302-312.
8. Virchow R. Neuer Fall von todlicher Emboli der Lungenarterie // *Arch. Pathol. Anat.* 1856. №10. P. 225-228.

ВОПРОСЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

**ВЗАИМОСВЯЗЬ КОЭКСПРЕССИИ PAKT1, PSYC
С ВЫЖИВАЕМОСТЬЮ БОЛЬНЫХ ДИФфуЗНОЙ
В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМОЙ**

Ванеева Елена Викторовна

*младший научный сотрудник лаборатории патоморфологии ФГБУН
«Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания
крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров*

E-mail: vaneeva@niigpk.ru

Росин Виталий Анатольевич

*канд.мед.наук, старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии
ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и
переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ,
г. Киров*

E-mail: rosin@niigpk.ru

Дьяконов Дмитрий Андреевич

*канд.мед.наук, зав. лабораторией патоморфологии ФГБУН «Кировский научно-
исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального
медико-биологического агентства», РФ, г. Киров*

E-mail: dyakonov@niigpk.ru

Самарина Светлана Валерьевна

*зав. клинико-диагностическим отделением ФГБУН «Кировский научно-
исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального
медико-биологического агентства», РФ, г. Киров*

E-mail: samarina@niigpk.ru

RELATIONSHIP OF THE COEXPRESSION PAKT1, PSYC WITH THE SURVIVAL OF PATIENTS WITH DIFFUSING LARGE B-CELL LYMPHOMA

Elena Vaneyeva

junior researcher of laboratory patomorphology, Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency, Russia, Kirov

E-mail: vaneeva@niigpk.ru

Vitaly Rosin

kandidat of medical science, senior researcher of laboratory patomorphology, Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency, Russia, Kirov

E-mail: rosin@niigpk.ru

Dmitry Dyakonov

kandidat of medical science, head. of laboratory patomorphology, Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency, Russia, Kirov

E-mail: dyakonov@niigpk.ru

Svetlana Samarina

head of clinical and diagnostic department, Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency, Russia, Kirov

E-mail: samarina@niigpk.ru

Аннотация.

В ретроспективное исследование включены 100 пациентов с впервые установленным диагнозом диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ), получавших полихимиотерапию по схеме R-СНОР. Цель исследования - проанализировать взаимосвязь разных вариантов иммуногистохимической коэкспрессии белков рАКТ1 и рСук с выживаемостью больных ДВККЛ. В работе использованы иммуногистохимический, морфологический, статистический

методы. В результате анализа установлено, что наиболее низкая общая (ОВ) и беспрогрессивная (БПВ) выживаемость установлена у пациентов с одновременной гиперэкспрессией обоих маркеров.

Abstracts.

Retrospective study included 100 patients with a newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) who received polychemotherapy according to the R-CHOP regimen. Analyze the relationship between different variants of immunohistochemical co-expression of pAKT1 and pSyk proteins with the survival rate of DLBCL patients. The study used immunohistochemical, morphological, statistical methods. As a result of the analysis, it was found that the lowest total (OS) and non-progressive (PFS) survival were found in patients with simultaneous overexpression of both markers.

Ключевые слова: диффузная В-крупноклеточная лимфома; pAKT1; pSyk; выживаемость.

Keywords: diffuse B-large cell lymphoma; pAKT1; pSyk; survival.

Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ) - наиболее распространенный вариант неходжкинских лимфом [5, с.74]. В настоящее время для определения прогноза болезни применяется ряд клинических систем стратификации (международные прогностические индексы, стадирование и другие) [1, с.1, 3, с.740]. Однако они не всегда позволяют точно оценить индивидуальный риск неудач терапии. В связи с этим представляет интерес поиск дополнительных биологических критериев, определяющих прогноз заболевания.

Известно, что дисрегуляция ключевых молекул сигнальных путей PI3K/AKT/mTOR, и BCR (pAKT1, pSyk) влияет на биологическое поведение опухолевых клеток и может определять прогноз ДВККЛ [1, с.1, 2, с.2, 7, с.148]. В ряде работ установлена взаимосвязь монотипической экспрессии pAKT1 и pSyk с низкой ОВ и БПВ больных ДВККЛ. Кроме того, предполагается существование тесной ассоциации отмеченных сигнальных каскадов [4, с.560, 6, с.6342]. Однако прогностическое значение сочетанной экспрессии белков pAKT1 и pSyk при этой патологии не изучено.

Цель исследования - оценить ассоциацию коэкспрессии белков pAKT1, pSyk в опухолевых клетках с общей и беспрогрессивной выживаемостью больных ДВККЛ.

Материалом для исследования служили биоптаты лимфоузлов и других органов и тканей, полученные от 100 пациентов с впервые установленным диагнозом ДВККЛ, находившихся на лечении в клинике ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России в период с 2012 по 2018 гг. Все больные получали стандартную иммунохимиотерапию первой линии по схеме R-СНОР. Определение относительного количества экспрессирующих pAKT1, pSyk опухолевых клеток проводили с помощью иммуногистохимического и морфометрического методов. ОВ и БПВ рассчитывали по методу Каплана-Мейера с использованием критерия log-rank test. Прогностически значимое пороговое значение экспрессии указанных белков вычисляли с применением ROC-анализа: для pAKT1 оно составило 70% позитивных опухолевых клеток, для pSyk - 28%. Согласно установленным пороговым значениям всех обследованных разделили на группы с высокой [$\geq 70\%$ (+) для pAKT1; $\geq 28\%$ (+) для pSyk] и низкой [$< 70\%$ (-) для pAKT1; $< 28\%$ (-) для pSyk] экспрессией белков. Проанализирована взаимосвязь различных вариантов коэкспрессии pAKT1 и pSyk с течением ДВККЛ.

Наиболее высокая ОВ (90,2%) зафиксирована в группе пациентов (n=41) с одновременно низкой экспрессией маркеров (pAKT1-/pSyk-). При наличии комбинаций pAKT1+/pSyk- и pAKT1-/pSyk+ она составила 52% (n=29) и 60% (n=15), соответственно. Наиболее низкие значения ОВ (26,7%) наблюдались у больных (n=15) с сочетанием белков pAKT1+/pSyk+, что значительно отличалось от других вариантов коэкспрессии маркеров (p<0,001; HR=5,2; 95% CI=2,49-10,9).

Аналогичная закономерность установлена при анализе БПВ. Доля пациентов без прогрессии заболевания с вариантом коэкспрессии pAKT1-/pSyk- составила 78,1% (n=41), а при наличии комбинаций pAKT1+/pSyk- и pAKT1-/pSyk+ - 55% (n=29) и 53% (n=15), соответственно. Самая низкая БПВ (40%) зарегистрирована у больных с одновременной гиперэкспрессией маркеров (n=15; p=0,002; HR=3,3; 95% CI=1,54-7,30).

Таким образом, сочетанная гиперэкспрессия биомаркеров pAKT1 и pSyk ассоциируется с более низкой ОВ и БПВ больных ДВККЛ по сравнению с другими вариантами их коэкспрессии.

Список литературы:

1. Самарина С.В. Комплексное использование иммуногистохимического подтипа и международного прогностического индекса в новой модели прогнозирования течения ДВККЛ / Самарина С.В., Лучинин А.С., Минаева Н.В., Дьяконов Д.А., Росин. В.А., Ванеева Е.В., Грицаев С.В // Клиническая онкогематология». - 2019. - №4. - P.1-10.
2. Dysregulation of Cell Survival in Diffuse Large B Cell Lymphoma: Mechanisms and Therapeutic Targets / Y. Miao, L. J. Medeiros, Z. Y. Xu-Monette et al. // Front. Oncology. - 2019. - Vol. 9. - P.1-17.
3. Dong, J. L. The prognostic value of the international prognostic index, the national comprehensive cancer network IPI and the age-adjusted IPI in diffuse large B cell lymphoma / J. L. Dong, Y. K. Wei, S. Zhang // Hematology. - 2018. - Vol. 39, № 9. - P.739-744.
4. High immunohistochemical expression of p-AKT predicts inferior survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy / S. Hasselblom, Z. Y. Xu-Monette, K. J. Jabbar et al. // British Journal of Haematology. - 2010. - Vol.149. - P.560-568.
5. Li, Sh. Diffuse large B-cell lymphoma / Sh. Li, K.H. Young, J. Medeiros // Pathology. - 2018. - Vol.50, №1. - P.74-87.
6. SYK inhibition and response prediction in diffuse large B-cell lymphoma / S. H. Cheng, G. Coffey, X. H. Zhang et al. // Blood. - 2014. - Vol.118, №24. - P.6342-6352.
7. Tyrosine kinase SYK: Essential functions for immunoreceptor signalling. / M. Turner, E. Schweighoer, F. Colucci, S. Di et al. // Immunol. today. - 2000. - Vol.21. - P.148-154.

**ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАРКЕРА
PD-L1 В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ ПРИ НОДУЛЯРНОМ СКЛЕРОЗЕ
ЛИМФОМЫ ХОДЖКИНА**

Дьяконов Дмитрий Андреевич

*кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией патоморфологии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский
научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства», РФ, г.Киров
E-mail: dyakonov@niigpk.ru*

Перфилова Елена Александровна

*кандидат ветеринарных наук, младший научный сотрудник
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский
научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства», РФ, г.Киров
E-mail: perfilova@niigpk.ru*

Минаев Максим Сергеевич

*младший научный сотрудник лаборатории патоморфологии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский
научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства», РФ, г.Киров
E-mail: minaev@niigpk.ru*

**IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF PD-L1 EXPRESSION IN
TUMOR CELLS IN NODULAR SCLEROSIS CLASSICAL HODGKIN
LYMPHOMA**

Dmitry Dyakonov

*candidate of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Pathomorphology The
Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology
and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency, Russia, Kirov
E-mail: dyakonov@niigpk.ru*

Elena Perfilova

candidate of Veterinary Sciences, Junior Researcher, Laboratory of Pathomorphology The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: perfilova@niigpk.ru

Maksim Minaev

junior Researcher, Laboratory of Pathomorphology The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: minaev@niigpk.ru

Аннотация.

Цель работы – изучение иммуногистохимической характеристики и подсчет PD-L1-позитивных опухолевых клеток. Для исследования использованы парафиновые блоки с биоптатов лимфатических узлов 40 пациентов с диагнозом классическая лимфома Ходжкина, нодулярный склероз. По характеру экспрессии PD-L1 установлены три типа окраски опухолевых клеток. Для мембранно-«dot-like» варианта определен пороговый уровень PD-L1-позитивных клеток Ходжкина и Рид-Штернберга (11,5%). При значении данного показателя $\geq 11,5\%$ шансы развития неблагоприятного течения заболевания увеличивались.

Abstract.

The aim of this study is assessment of immunohistochemical characteristics and the relative content of PD-L1-positive tumor cells. We used formalin fixed paraffin-embedded (FFPE) lymph node samples of 40 patients with nodular sclerosis Hodgkin lymphoma. Three types of staining of PD-L1-positive tumor cells were identified. For the membrane-«dot-like» variant, the threshold level of the proportion of PD-L1-positive Hodgkin and Reed-Sternberg cells was determined (11.5%). The chances of developing an unfavorable course of the disease increased with a value $\geq 11.5\%$.

Ключевые слова: классическая лимфома Ходжкина; PD-L1; прогнозирование; иммуногистохимия.

Keywords: classical Hodgkin lymphoma; PD-L1; prognosis; immunohistochemistry.

Изучение белка программируемой клеточной гибели, известного как PD-1, и соответствующего ему лиганда (PD-L1) является актуальным при определении информативных критериев эффективности терапии с применением препаратов моноклональных антител. Способность опухолевой популяции воздействовать на рецепторы иммунных контрольных точек обеспечивает их резистентность к цитотоксическому ответу. Экспрессия маркеров PD-1 и PD-L1/2 обнаружена при различных лимфопролиферативных заболеваниях [2, с. 1275-1282]. Однако показатели варьируют в широком диапазоне не только при различных нозологических типах лимфом, но и в пределах одного иммуноморфологического варианта.

Нодулярный склероз является одним из наиболее часто встречающихся гистологических подтипов классической лимфомы Ходжкина (кЛХ). Опухолевым субстратом заболевания являются клетки Ходжкина и Рид-Штернберга [1, с.47]. Известно, что связывание PD-1 с лигандом на неоплазированных элементах вызывает инактивацию сигналов Т-клеточного рецептора. Это приводит к снижению аутоиммунной агрессии и противоопухолевого иммунного ответа [3, с.61]. Представленные в литературе данные относительно особенностей экспрессии PD-L1 при кЛХ немногочисленны [4, с.94–99; 5, с.304; 6, с.95]. Открытым остается вопрос зависимости между характером иммуногистохимической экспрессии, уровнем относительного содержания PD-L1-позитивных клеток в гистологических срезах лимфоузлов пациентов с нодулярным склерозом кЛХ и ответом на терапию первой линии. Морфологический и морфометрический анализ маркера PD-L1 с учетом его количественных и качественных характеристик может служить дополнительным способом оценки прогнозирования течения заболевания.

Цель – определение иммуногистохимического характера экспрессии и подсчет PD-L1-позитивных опухолевых клеток у больных нодулярным склерозом кЛХ.

Для исследования использованы парафиновые блоки лимфатических узлов 40 пациентов с диагнозом кЛХ, нодулярный склероз. В зависимости от ответа на 1 линию терапии обследуемые разделены на 2 группы: первую (n = 15) составили больные, достигшие полной ремиссии; вторую (n = 25) – пациенты, рефрактерные

к химиотерапии или с минимальным ответом на нее. Для идентификации маркера PD-L1 (клон ZR3) в исследуемом материале использован иммуногистохимический метод окрашивания по стандартной методике. Для статистической обработки данных применялась программа STADIA.

При морфометрическом подсчете клеток, позитивных к PD-L1, наблюдалась тенденция к повышению их общего количества в 1 группе, по сравнению со 2 группой: 96% (85,2-99,2) против 91% (79,0-97,0) соответственно. Статистически значимых различий не получено ($p > 0,05$).

По характеру преобладающей экспрессии PD-L1 в опухолевых элементах выявлены три различных типа окраски. Мембранный тип установлен в 76% (68,0-83,0) случаев и определялся достоверно чаще, чем мембранно-цитоплазматический и мембранно-«dot-like» 12,4% (5,4-21,9) и 9,7% (6,7-14,4) соответственно, $p < 0,05$. Опухолевые клетки с мембранной экспрессией визуализировались у пациентов в обеих группах примерно с одинаковой частотой: 74% (68,7-86,2) и 71% (60,0-79,7) соответственно, $p > 0,05$. Статистически значимые различия между мембранно-цитоплазматическим характером окраски опухолевых клеток у обследуемых 1 группы в отличие от больных с неблагоприятным течением болезни не выявлены: 11,5% (3,5-25,0) и 20% (8,5-27,7) соответственно, $p > 0,05$. Комбинированный мембранно-«dot-like» тип экспрессии реже отмечался в 1 группе пациентов с ЛХ, чем во второй: 10% (6,0-16,0) и 11% (7,0-14,5), соответственно, $p = 0,04$.

На основании проведенного ROC-анализа установлен пороговый уровень экспрессии маркера для мембранно-«dot-like» характера окраски: пороговое значение в точке cut-off соответствовало 11,5%. Для других типов окраски значимых моделей не получено.

У больных 1 группы подпороговое значение ($< 11,5\%$) отмечалось в 57,1% случаев, против 38,1% - во второй. Надпороговый уровень ($\geq 11,5\%$) встречался в 1,4 раза чаще у обследованных 2 группы, чем у пациентов первой группы: 61,9% и 42,9%, соответственно; $p = 0,031$. При значении показателя выше порогового или равного ему увеличивались шансы развития неблагоприятного течения заболевания ($OR = 2,16$; $CI\ 95\% = 0,54-8,58$).

Таким образом, выявлены особенности иммуногистохимического окрашивания и относительного содержания PD-L1 позитивных опухолевых элементов. По характеру преобладающей экспрессии маркера определены три

различных типа окраски клеток Ходжкина и/или Рид-Штернберга, наиболее частым из которых является мембранный. Для мембранно-«dot-like» варианта экспрессии определен пороговый уровень доли PD-L1-положительных клеток (11,5%), а также установлены статистически значимые различия, указывающие на неблагоприятное течение болезни. Характер экспрессии лиганда клеточной гибели опухолевых элементов при нодулярном склерозе кЛХ может служить дополнительным морфологическим методом оценки течения заболевания и эффективности терапии.

Список литературы:

1. Минаев М.С., Перфилова Е.А., Дьяконов Д.А., Кузьмин А.А., Павлова Н.Б., Коновалов Д.М., Парамонов И.В. Перспективы прогнозирования течения нодулярного склероза лимфомы Ходжкина путем морфометрического анализа CD163-положительных макрофагов. Онкогематология, 2021. 16(1). С.47-53.
2. <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2021-16-1-47-53>
3. Al Hadidi SA, Lee HJ. Pembrolizumab for the treatment of Hodgkin Lymphoma. *Expert Opin Biol Ther.* 2020 Nov;20(11):1275-1282. doi: 10.1080/14712598.2020.1830056. Epub 2020 Oct 16. PMID: 33006479.
4. Connors, J.M., Cozen, W., Steidl, C. et al. Hodgkin lymphoma. *Nat Rev Dis Primers* 6, 61 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41572-020-0189-6>
5. Jiang X. и др. Role of the tumor microenvironment in PD-L1/PD-1-mediated tumor immune escape // *Mol. Cancer*, 2019. №10, doi: 10.1186/s12943-018-0928
6. Lepik K. Immune Checkpoint Inhibitors in the Treatment of Lymphomas // *Clin. Oncohematology*, 2018. Т. 11. № 4. С. 303–312.
7. Sayapina M. S. Immunoregulatory functions of PD-1/PD-L1 inhibitors and development of resistance to them // *Malig. tumours*. 2017. № 2. С. 94–99.

**ДИНАМИКА ПАРАМЕТРОВ ГЕМОГРАММЫ ПРИ
МОБИЛИЗАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У
ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ**

Исаева Наталья Васильевна

к.б.н., старший научный сотрудник

лаборатории клеточной и молекулярной иммунологии

Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский

научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови

Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: isaeva@niigpk.ru

Зорина Наталья Александровна

к.м.н., заведующий отделением химиотерапии

и трансплантации костного мозга

Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский

научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови

Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: zorina@niigpk.ru

Киселева Анастасия Николаевна

к.б.н., младший научный сотрудник

лаборатории клеточной и молекулярной иммунологии,

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский

научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови

Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: kiseleva@niigpk.ru

**DYNAMICS OF HEMOGRAM PARAMETERS IN THE LOCALIZATION
OF HEMATOPOIETIC STEM CELLS IN ONCOHEMATOLOGICAL
PATIENTS**

Natalia Isaeva

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the Laboratory

of Cellular and Molecular Immunology,

The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency, Russia,

Kirov

E-mail: isaeva@niigpk.ru

Natalia Zorina

*Candidate of Medical Sciences, Head of the Department
of Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation,*

*The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of
Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency,*

Russia, Kirov

E-mail: zorina@niigpk.ru

Anastasiya Kiseleva

*Candidate of Biological Sciences, Junior Researcher of the Laboratory
of Cellular and Molecular Immunology,*

*The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of
Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency,*

Russia, Kirov

E-mail: kiseleva@niigpk.ru

Аннотация.

Цель работы - проанализировать динамику параметров гемограммы при мобилизации гемопоэтических стволовых клеток у онкогематологических больных. Параметры изучили у 102 больных с помощью световой микроскопии и проточной цитометрии. У больных с недостаточной мобилизацией ГСК наблюдали следующие закономерности численности клеток: повышение числа лейкоцитов на 3-7 сут., 5-кратный прирост количества нейтрофилов на 4 сут., скачок лимфоцитов на 4 сут., волнообразная количественная динамика моноцитов. Результаты позволят оптимизировать сбор трансплантационной дозы стволовых клеток.

Abstract.

The aim of the work is to analyze the dynamics of hemogram parameters during the mobilization of hematopoietic stem cells in oncohematological patients. The parameters were studied in 102 patients using microscopy and flow cytometry. In patients with

insufficient HSC mobilization, the following patterns of cell numbers were observed: an increase in the number of leucocytes on day 3-7, a 5-fold increase in the amount of neutrophils on day 4, a jump in the content of lymphocytes on day 4, and a wave-like quantitative dynamics of monocytes. The results will optimize the collection of the dose of stem cells.

Ключевые слова: гемопоэтическая стволовая клетка, мобилизация, гемограмма.

Keywords: hematopoietic stem cell, mobilization, hemogram.

В настоящее время в процесс трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) при онкогематологических заболеваниях используется лейкоконцентрат, получаемый методом аппаратного лейкоцитафереза после мобилизации гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Г-КСФ) [8, с.220-221; 5, с. 1008-1016; 2, с. 1034-1035]. Доля неудачных аферезов составляет 23-34%, а проблемы получения достаточного количества ГСК связывают с динамикой их мобилизации в периферическую кровь, обусловленной индивидуальными особенностями пациента [1, с. 16-17; 3с. 23]. При мобилизации ГСК наблюдаются сдвиги в численности лейкоцитарных элементов в периферической крови [6, с. 68].

Цель исследования – проанализировать количественные показатели гемограммы при мобилизации аутологичных ГСК у онкогематологических больных.

В исследование включены 102 пациента с онкогематологическими заболеваниями: неходжкинскими лимфомами - 21 (20,6%), лимфомой Ходжкина - 31 (30,4%) и множественной миеломой - 50 (49,0%). Доза Г-КСФ в монорежиме у 18,6% больных составила 10 мкг/кг/сут. При комбинированном режиме мобилизации (в 81,4% случаев) наряду с Г-КСФ в дозе 5 мкг/кг/сут использованы разные схемы химиотерапии. По результатам числа ГСК в крови сформированы две группы: в первую были включены 90 (88,2%) человек, у которых содержание ГСК в крови на 3 день от начала введения Г-КСФ возросло до значений более 20 клеток на 1 мкл; во вторую вошли 12 (11,8%) пациентов с приростом ГСК на 4-6 дни до уровня менее 20 клеток на 1 мкл.

В образцах периферической крови методом световой микроскопии определяли содержание лейкоцитов, лазерной проточной цитофлуориметрии

(«FACSCanto™II», США) - число ГСК, нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов [7, с. 780-785]. Рассчитывали дозу ГСК в полученных лейкоконcentратах. Различия в группах оценивали на основании критерия Стьюдента, значимыми считали различия при $p < 0,05$ (программа «СТАДИЯ», Россия) [4, с. 145-149].

У больных I группы среднее количество ГСК, собранных за один лейкоцитаферез, было выше, чем во II ($3,7 \pm 1,47 \times 10^6/\text{кг}$ против $1,0 \pm 0,08 \times 10^6/\text{кг}$, $p < 0,001$). Минимальная достаточная доза ГСК ($4,0 \times 10^6/\text{кг}$) у I группы была заготовлена в ходе первой серии лейкоцитаферезов, у всех больных II группы для заготовки была выполнена ремобилизация со второй серией лейкоцитаферезов. Для заготовки трансплантационной дозы у пациентов II группы требовалось большее число лейкоцитаферезов, чем в I группе ($4,7 \pm 0,21$ против $2,9 \pm 0,21$, $p < 0,001$).

Значимый прирост числа лейкоцитов в крови у больных I группы выявили на 2 сут, во II группе - на 3-7 сут (рисунок 1). Кратность прироста абсолютного числа нейтрофилов на 4 сут была следующей: у больных I группы количество нейтрофилов возросло в среднем в 22 раза, во II группе – в 5 раз.

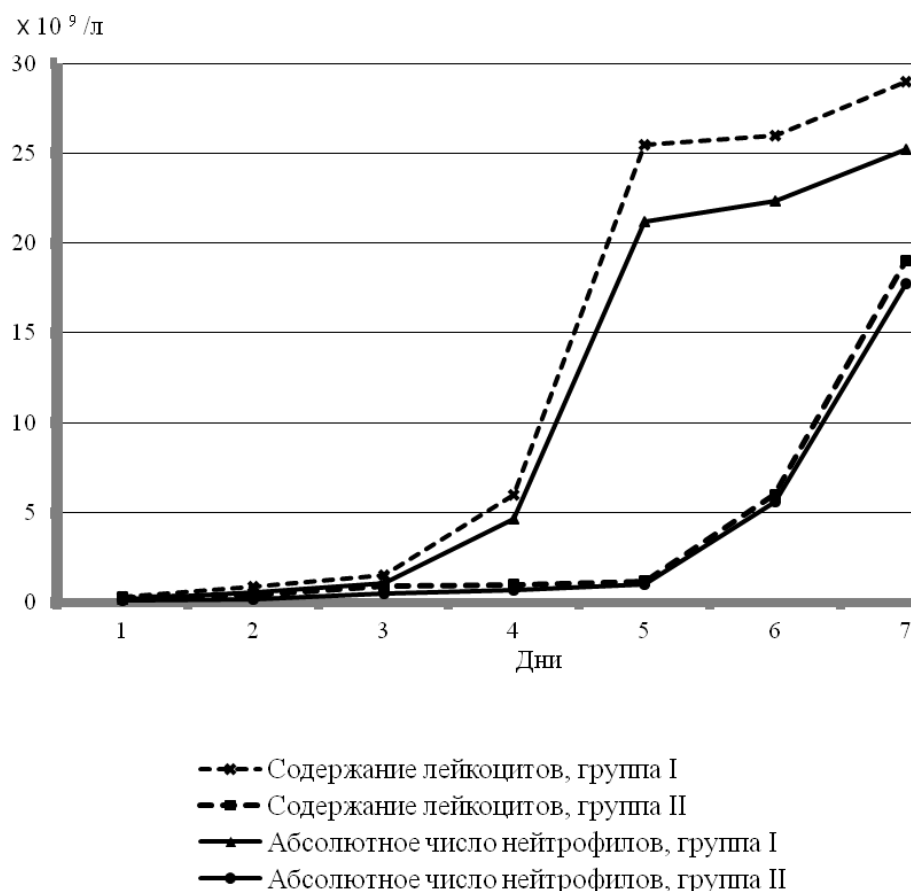


Рисунок 1. Динамика изменения содержания лейкоцитов и абсолютного числа нейтрофилов

Выявили увеличение абсолютного числа лимфоцитов: в I группе скачкообразное повышение количества лимфоцитов зафиксировано на 3 сут, во II – на 4 сут (рисунок 2). Установлены особенности динамики абсолютного числа моноцитов. Так, у больных I группы регистрировали ежесуточный прирост их числа, во II - изменения абсолютного числа моноцитов имели разнонаправленный характер с подъемом на 4 и 7 сут, но с понижением на 5 - 6 сут.

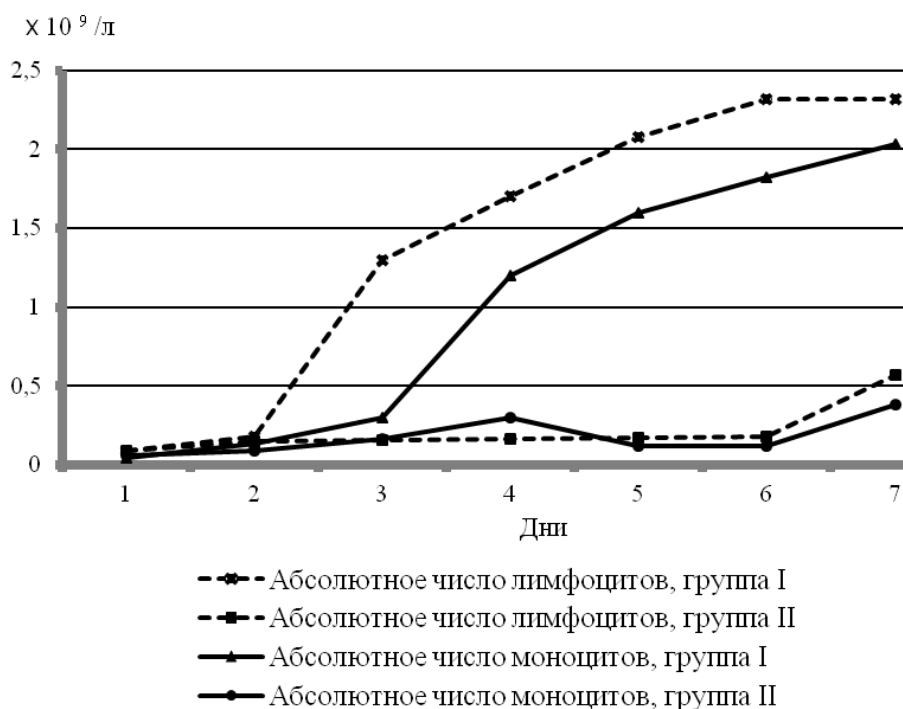


Рисунок 2. Динамика изменения абсолютного содержания лимфоцитов и моноцитов

Заключение.

Установлено, что недостаточная мобилизация ГСК в периферическую кровь при онкогематологических заболеваниях негативно отражается на эффективности сбора минимальной достаточной трансплантационной дозы ГСК. При недостаточной мобилизации ГСК в кровь наблюдались следующие изменения гемограммы: отсутствие прироста содержания лейкоцитов на 2 сут, но выявление его позже – на 3-7 сут; 5-кратное увеличение числа нейтрофилов и скачок количества лейкоцитов на 4 сут; а также волнообразная динамика числа моноцитов. Полученные данные позволяют своевременно определять необходимость выполнения альтернативных подходов к мобилизации ГСК.

Список литературы:

1. Алексеев С.М. Оценка факторов, влияющих на эффективность мобилизации гемопоэтических стволовых клеток при трансплантации. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. СПб., 2009., 19 с.
2. Гальцева И.В. Процедура заготовки CD34+стволовых гемопоэтических клеток для трансплантации аллогенных и аутологичных стволовых клеток крови / Е.В. Гальцева, Т.В. Гапонова, О.С. Покровская [и др.] // Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. - М.: Практика, 2018. - С. 1031 - 1040.
3. Гальцева И.В. Абсолютное количество гемопоэтических стволовых клеток CD34+ в периферической крови перед процедурой лейкафереза как параметр, прогнозирующий эффективность сбора стволовых клеток / И.В. Гальцева, Ю.О. Давыдова, Т.В. Гапонова [и др.] // Терапевтический архив, 2017. № 7. С. 18 - 24.
4. Кулаичев А.П. Методы и средства комплексного статистического анализа данных. М.: ФОРУМ, 2006. 512 с.
5. Покровская О.С. Протокол мобилизации и сбора гемопоэтических стволовых клеток крови / О.С. Покровская, Л.П. Менделеева, И.В. Гальцева [и др.] // Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. М.: Практика, 2018. - С. 1001 - 1030.
6. Румянцев С.А. Влияние гранулоцитарного колониестимулирующего фактора на клеточный состав периферической крови / С.А. Румянцев, Е.Ю. Осипова, Т.А. Астрелина [и др.] // Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии, 2002. №1. С. 66-69.
7. Barnett D. Reduction of intra- and interlaboratory variation in CD34- stem cell enumeration using stable test material, standard protocols and targeted training. CD34. Task Force of the European Working Group of Clinical Cell Analysis (EWGCCA). / B. Darnett, V. Granger, J. Kraan // Br J Haematol, 2000. № 108. С. 784 – 792.
8. Ljungman P. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe 2009 / P. Ljungman, M. Bregni, M. Brune [et al.] // Bone Marrow Transplant, 2010. №45. P. 219 - 234.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОРАЖЕНИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ДИФФУЗНОЙ В-КЛЕТОЧНОЙ КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЕ

Карпова Виктория Сергеевна

*врач-гематолог ЧУЗ КБ «РЖД-Медицина» г. Новосибирск», РФ, Новосибирск
E-mail: vicka-34@ngs.ru*

Воропаева Елена Николаевна

*доктор медицинских наук, старший научный сотрудник
лаборатории молекулярно-генетических исследований
терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины –
филиал ИЦИГ СО РАН, РФ, Новосибирск
E-mail: vena.81@mail.ru*

Поспелова Татьяна Ивановна

*доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой терапии,
гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ Новосибирского государственного
медицинского университета, РФ, Новосибирск
E-mail: post_gem@mail.ru*

**CHARACTERISTICS OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM LESIONS IN
DIFFUSE B-CELL LARGE-CELL LYMPHOMA**

Viktoriya Karpova

*Hematologist of CHUZ CB “Russian Railways-Medicine” Novosibirsk”, Russia,
Novosibirsk*

E-mail: vicka-34@ngs.ru

Elena Voropaeva

*Doctor of Medical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetic Re-
search of Therapeutic Diseases, Research Institute of Therapy and Preventive Medi-
cine - Branch of ICIG SB RAS, Russia, Novosibirsk
E-mail: vena.81@mail.ru*

Tatyana Pospelova

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Therapy,

Hematology and Transfusiology of FPC and PPV of the

Novosibirsk State Medical University, Russia, Novosibirsk

E-mail: post_gem@mail.ru

Аннотация.

Цель: изучить характеристику поражения центральной нервной системы (ЦНС) при диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме (ДВККЛ). Материал. В исследование вошли 36 пациентов с ДВККЛ с поражением ЦНС. Результаты. Приведена характеристика ДВККЛ с первичным и вторичным вовлечением ЦНС. Описан спектр неврологической симптоматики. Выводы. Вторичные поражения ЦНС в основном выявлялись в долях мозга, не имели тенденции к лобной локализации, характеризовались большей частотой вовлечения в опухолевый процесс спинного мозга и наличием изолированных лептоменингеальных форм.

Abstract.

Objective: to study the characteristics of central nervous system (CNS) lesions in patients with diffuse B-cell large cell lymphoma (DLBCL). Material. 36 DLBCL patients with CNS lesion were included. Results. A comparative characteristic of DLBCL with primary and secondary CNS lesions is given. The spectrum of general cerebral and focal symptoms of patients is described. Conclusions. Secondary CNS lesions in DLBCL were mainly detected in the brain lobes, had no tendency to frontal localization, were characterized by a higher frequency of involvement in the spinal cord tumor process and the presence of isolated leptomeningeal forms.

Ключевые слова: диффузная В-крупноклеточная лимфома; первичная лимфома ЦНС; вторичное вовлечение ЦНС.

Keywords: diffuse B-large cell lymphoma; primary CNS lymphoma; secondary CNS involvement.

В доступных российских источниках литературы отсутствует сравнительная оценка вариантов ДВККЛ с первичным и вторичным поражением ЦНС по частоте вовлечения отделов нервной системы, характеру поражения вещества и оболочек мозга, локализации очагов, а также спектру неврологической симптоматики [3, с. 19, 4, с. 37].

Цель исследования: изучить характеристику поражения центральной нервной системы (ЦНС) при диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме (ДВККЛ).

Материал и методы

Проведен ретроспективный анализ первичной медицинской документации 36 пациентов Городского гематологического центра г. Новосибирска с диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ), имеющих поражение опухолью центральной нервной системы (ЦНС). Диагноз был верифицирован в 2012-2020 гг. данными морфологического и иммуногистохимического исследования биоптатов опухоли. Средний возраст пациентов составил $57,4 \pm 27,6$ лет, из них 22 (61%) – женщины и 14 (39%) – мужчины.

Результаты исследования

Диагноз первичной диффузной В-крупноклеточной лимфомы центральной нервной системы (ПЛЦНС) был установлен 24 (67%) пациентам. У 12 (36%) пациентов было вторичное поражение ЦНС. Из них у 7 (58%) больных поражение ЦНС наблюдалось в момент диагностики, у остальных- при прогрессировании ДВККЛ. В таблице 1 приведена сравнительная характеристика.

По данным магнитно-резонансной томографии головного и спинного мозга, а также цитологического исследования ликвора поражение головного мозга имели 32 (89%), тогда как спинного мозга – лишь 4 (11%) больных. У 9 (38%) пациентов ПЛЦНС выявлялся единичный очаг поражения, у 12 (50%) – множественные очаги поражения, у 3 (12%) – смешанная форма. У больных с вторичным поражением ЦНС в 5 (42%) случаев выявлялся единичный очаг поражения, в 3 (25%) случаев – множественные очаги поражения, лептоменингеальное поражение изолированное и смешанная форма- в 2 (16,5%) случаев каждое.

Таблица 1. Сравнительная характеристика вариантов ДВККЛ с первичным и вторичным поражением ЦНС

Параметры	ПЛЦНС (n=24)	Вторичное вовлечение ЦНС при ДВККЛ (n=12)	Уровень значимости p-value
Отдел ЦНС			
Спинной мозг	1 (4%)	3 (25%)	0,061
Головной мозг	23 (96%)	9 (75%)	
Характер поражения			
Поражение вещества мозга, из них:	21 (88%)	8 (67%)	0,137
- единичный очаг	9 (43%)	5 (63%)	0,345
- множественные очаги	12 (57%)	3 (37%)	
Лептоменингеальная форма	-	2 (16,5%)	0,040
Смешанная форма	3 (12%)	2 (16,5%)	0,734
Поражение отделов головного мозга			
Доли мозга, в том числе:			
- лобной	11 (46%)	2 (16%)	0,086
- теменной	8 (29%)	3 (25%)	0,609
- затылочной	2 (8%)	3 (25%)	0,173
- височной	4 (17%)	1 (8%)	0,496
Мозолистое тело	3 (12%)	-	0,201
Пинеальная область	1 (4%)	-	0,474
Таламус	2 (8%)	-	0,304
Ядра черепно- мозговых нервов	2 (8%)	1 (8%)	1,0
Мозжечок и мостомозжечковый угол	6 (25%)	2 (16%)	0,571

В группе ПЛЦНС у 11 (46%) пациентов была поражена лобная, 8 (29%) – теменная, 2 (8%) – затылочная, 4 (17%) – височная доля, 3 (12%) – мозолистое тело, 1 (4%) – пинеальная область, 2 (8%) – таламус, 6 (25%) – мозжечок и 2 (8%) черепно-мозговые нервы. В целом в группе ДВККЛ с вторичным

поражением ЦНС в патологический процесс была вовлечена лобная доля – в 2 (16%), теменная и затылочная доли в 3 (25%), а височная доля и ядра черепно-мозговых нервов в 1 (8%) случаев каждая. Поражение мозжечка и мостомозжечкового угла имели 2 (16%) больных. В клинической картине отмечалась следующая общемозговая и очаговая симптоматика [2]. Цефалгии были у 14 (39%), а тошнота/рвота – у 2 (6%) пациентов. Когнитивные и эмоционально-волевые нарушения отмечались в 4 (11%) и 3 (9%) случаев, соответственно. Среди симптомов неврологического дефицита преобладали парезы и параличи конечностей, которые выявлялись более чем у трети пациентов (в 36% случаев), тогда как нарушения чувствительности имели лишь 4 (11%) больных. Среди других симптомов неврологического дефицита отмечались нарушения зрения – у 4 (12%), изменения речи, слуха и функции черепно-мозговых нервов – по 3 (9%), нарушение функции тазовых органов – 2 (6%) и анозмия – 1 (3%) больной. Мозжечковые симптомы имели 8 (22%) пациентов. Симптомы «раздражения» встречались редко: генерализованные судороги и судороги в конечностях имели по 3 (9%) пациентов, галлюцинации- у 1 (3%) больного.

Выводы

Вторичные поражения ЦНС при ДВККЛ в отличие от ПЛЦНС характеризовались большей частотой вовлечения в опухолевый процесс спинного мозга (в четверти случаев против единичного наблюдения, $p=0,061$), а также наличием изолированных лептоменингеальных форм ($p=0,040$).

В проанализированной нами когорте пациентов с ПЛЦНС в отличие от литературных данных, свидетельствующих о преимущественном поражении головного мозга лимфомой в виде единичного очага [1], более чем в половине (57%) случаев отмечалось мультифокальное поражение.

Складывается впечатление о большей частоте поражения при ПЛЦНС глубинных структур мозга.

В отличие от ПЛЦНС очаги вторичного поражения ЦНС при ДВККЛ в основном выявлялись в долях мозга и не имели выраженной тенденции к лобной локализации (16% против 46% соответственно ($p=0,086$)).

У пациентов группы исследования в неврологической симптоматике наиболее часто отмечались цефалгии, а также парезы и параличи конечностей.

Список литературы:

1. Губкин А.В., Звонков Е.Е., Кременецкая А.М., Криволапов Ю.А., Пересторонина Т.Н., Капланская И.Б., Лошаков В.А., Голанов А.В., Кобяков Г.Л., Кравченко С.К. Первичные лимфопролиферативные заболевания центральной нервной системы // Клиническая онкогематология, 2008. №4. С. 323-332.
2. Дегтярев Д.А., Смолин А.В., Серяков А.П. К вопросу лимфоидного поражения центральной нервной системы у пациентов индолентными неходжкинскими лимфомами // Сборник трудов «Комбинированная и сочетанная патология: проблемы диагностики и лечения». – Москва: ГВКГ им. Н.Н. Бурденко, 2005. С. 77-80.
3. Киселев А.А., Григорьевна В.Н., Авдоница Ю.Д. Поражение нервной системы у больных неходжкинскими лимфомами // Клиническая неврология, 2008. №1. С. 15-21.
4. Первичная лимфома центральной нервной системы у взрослых: Клинические рекомендации / под ред.: В.Г.Савченко и И.В. Поддубной [и др.]. Москва: Министерство здравоохранения РФ, 2016. – 37 с.

УДК 616-093/-098

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ГРИБКОВЫХ ИНФЕКЦИЙ (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

Козель Юлия Юрьевна

*д.м.н профессор, заведующий отделением детской онкологии ФГБУ
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии»*

Министерства здравоохранения Российской Федерации, РФ,

г. Ростов-на-Дону

E-mail: loronso.k-l@mail.ru

Козюк Ольга Владимировна

*врач детский онколог ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский
центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, РФ,*

г. Ростов-на-Дону

E-mail: olya.olgavladimirovna@yandex.ru

Дмитриева Виктория Викторовна

*к.м.н. врач детский онколог ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, РФ, г. Ростов-на-Дону
E-mail: vik-dmitrieva@yandex.ru*

Куцевалова Ольга Юрьевна

*к.б.н., главный внештатный специалист по клинической микробиологии Министерства здравоохранения Ростовской области, заведующий лабораторией клинической микробиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии», РФ, г. Ростов-на-Дону
E-mail: Olga_kutsevalova@mail.ru*

Шашкина Лариса Юрьевна

*к.м.н., врач детский онколог ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, РФ, г. Ростов-на-Дону
E-mail: Lyabchik@bk.ru*

Куштова Луиза Беслановна

*аспирант кафедры онкологии Ростовского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, РФ, г. Ростов-на-Дону
E-mail: li_da0010@mail.ru*

MODERN POSSIBILITIES FOR THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF FUNGAL INFECTIONS (CLINICAL CASE)

Yulia Kozel

*MD, Professor, Head of the Department of Pediatric Oncology, Federal State Budgetary Institution «National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Russia, Rostov-on-Don
E-mail: loronco.k-l@mail.ru*

Olga Kozyuk

*Pediatric Oncologist, National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation, Russia, Rostov-on-Don
E-mail: olya.olgavladimirovna@yandex.ru*

Victoria Dmitrieva

Doctor of Medical Sciences, Pediatric Oncologist, National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation, Russia, Rostov-on-Don
E-mail: vik-dmitrieva@yandex.ru

Olga Kutsevalova

PhD, Chief Freelance Specialist in Clinical Microbiology of the Ministry of Health of the Rostov Region, Head of the Laboratory of Clinical Microbiology of the Federal State Budgetary Institution «National Medical Research Center of Oncology»,
Russia, Rostov-on-Don
E-mail: Olga_kutsevalova@mail.ru

Larisa Shashkina

Candidate of Medical Sciences, Pediatric Oncologist, National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation, Russia, Rostov-on-Don
E-mail: Lyabchik@bk.ru

Luiza Kushtova

Postgraduate Student of the Department of Oncology of the Rostov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Russia, Rostov-on-Don
E-mail: li_da0010@mail.ru

Аннотация.

За последние десятилетия значительно увеличилась распространенность инвазивных микозов у различных категорий иммунокомпрометированных больных. Основными возбудителями инвазивных микозов являются *Candida spp.*, *Aspergillus spp.* и *Cryptococcus neoformans*. Инвазивный кандидоз, аспергиллез и криптококкоз отличаются тяжестью клинических проявлений и высокой летальностью. Появились новые методы диагностики и противогрибковые препараты. Представлен клинический случай острого лимфобластного лейкоза, осложнившегося в процессе терапии инвазивным микозом.

Abstract.

Over the past decade, the prevalence of invasive mycoses in various categories of

immunocompromised patients has significantly increased. The main causative agents of invasive mycoses are *Candida* spp., *Aspergillus* spp. and *Cryptococcus neoformans*. Invasive candidiasis, aspergillosis and cryptococcosis are characterized by the severity of clinical manifestations and high mortality. There are new diagnostic methods and antifungal drugs. A clinical case of acute lymphoblastic leukemia, complicated by invasive mycosis, is presented.

Ключевые слова: кандидоз; острый лимфобластный лейкоз; пневмония; микоз.

Keywords: candidiasis; acute lymphoblastic leukemia; pneumonia; mycosis.

В последние десятилетия достигнуты значительные успехи в лечении онкогематологических заболеваний. Выживаемость данной категории пациентов зачастую зависит от эффективного лечения инфекционных осложнений, в том числе инвазивных микозов. Среди них самыми распространёнными являются инвазивные кандидоз и аспергиллез [1,2,3,4].

Целью данного исследования явилось описание клинического случая с инвазивным микозом.

Пациентка А., 4 года, в феврале 2016 г. поступила в отделение с предварительным диагнозом: ювенильный ревматоидный артрит? Острый лейкоз. Установлен диагноз: острый лимфобластный лейкоз, ВП иммуновариант, FAB классификация L2.

Проведена индукция ремиссии по протоколу ALL-MB 2015 группа А, после чего достигнута ремиссия основного заболевания.

С марта по апрель 2016 г. химиотерапия была прервана из-за пневмонии, подтвержденной рентгенологически, результаты микробиологического исследования отрицательные. После разрешения инфекционного процесса терапия продолжена в рамках протокола.

В августе 2016 г. пациентка поступила в отделение детской онкологии для продолжения очередного этапа лечения. На 2 сутки поступления у ребенка отмечались жалобы на повышение температуры тела до фебрильных цифр; дискомфорт в ротовой полости, при осмотре которой выявлены единичные

афты, что расценено как стоматит; при аускультации в легких дыхание проводилось во всех отделах, хрипов нет, дыхательной недостаточности нет (ЧД 23). По данным рентгенограммы ОГК: инфильтрация паренхимы легочной ткани, больше справа. Справа уплотнение междолевой плевры. Воспалительные изменения в легких. Состояние расценено как двухсторонняя пневмония. Проведено взятие периферической крови и материала со слизистой носа и зева для бактериологического исследования, патологической флоры не выявлено. Назначена антибактериальная (цефтриаксон), противогрибковая терапия (микафунгин) в возрастной дозировке.

На 4 сутки у ребенка на фоне проводимой терапии сохранялась фебрильная температура тела ($39,3^{\circ}\text{C}$), при аускультации дыхание жесткое в нижних отделах, хрипов нет, отмечалось нарастание дыхательной недостаточности (ЧД 51). Повторно взята периферическая кровь для микробиологического исследования, выявлено нарастание титра маннанных антител в сыворотке крови больше 500. Прокальцитониновый тест отрицательный. На рентгенограмме отмечалось в динамике углубление воспалительного процесса с обеих сторон. Была изменена антибактериальная терапия (меропенем, линезолид), противогрибковая терапия (каспогунгин).

На 6 сутки на фоне проводимой терапии у ребенка сохранялся субфебрилитет, отмечалось нарастание дыхательной недостаточности (ЧД 71). На рентгенограмме сохранялась инфильтрация в легочной ткани с обеих сторон. В периферической крови сохранялся высокий уровень обнаружения грибов рода кандиды, превышающий норму в 1000 раз. Концентрация прокальцитонина в сыворотке крови превышала норму в 12 раз. Пациент проконсультирован у врача-реаниматолога, рекомендован перевод в реанимационное отделение. Состояние ребенка прогрессивно ухудшалось: в течение дня нарастала дыхательная недостаточность ЧД до 88 в мин, он переведен на ИВЛ, к антибактериальной терапии дополнительно добавлен бисептол, азитромицин, к противогрибковой терапии - вориканозол.

На 8 сутки сохранялся субфебрилитет, при аускультации аппаратное дыхание, над всей поверхностью легких выслушивались разнокалиберные сухие хрипы. В сыворотке крови отмечалось нарастание грибов рода кандиды более 1000, прокальцитониновый тест - положительный (12). На рентгенограмме выявлена тотальная воспалительная инфильтрация легочной ткани с двух сторон.

Выполнена гемофильтрация. Коррекция медикаментозной терапии: отменен меропенем, добавлен сульцеф, противогрибковая терапия продолжалась в прежнем объеме.

На 10 сутки температура тела снизилась до фебрильных цифр, при аускультации - картина без динамики, рентгенологически - тоже. В при микробиологическом исследовании сыворотки крови изменений не наблюдалось.

С 13 суток отмечался рост температуры тела до фебрильных цифр (38,5° С), при аускультации - ослабленное дыхание над всей поверхностью легких, сохранялись разнокалиберные хрипы. Отмечался рост грибов рода кандида до 500, прокальцитонин отрицательный (рисунок 1).

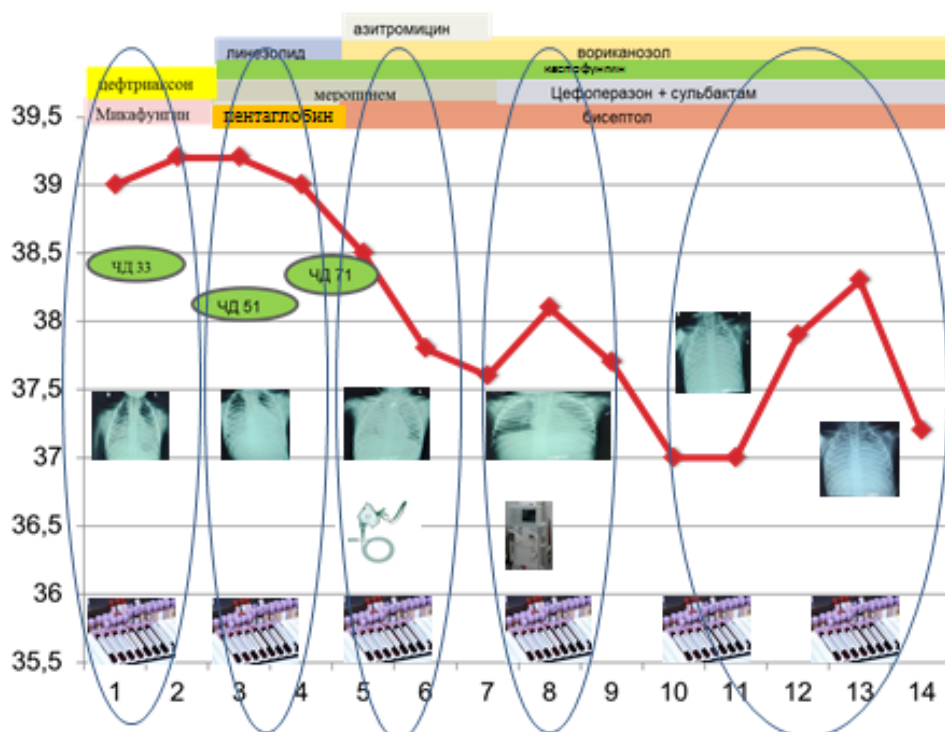


Рисунок 1. Отрицательная динамика показателей пациента в течение 14 суток лечения

К 15 суткам состояние прогрессивно ухудшалось за счет нарастающей дыхательной и сердечно-сосудистой недостаточности, при аускультации дыхание аппаратное на фоне агрессивных параметров, резко ослабленное, над всей поверхностью легких сухие хрипы. В сыворотке крови - рост грибов рода кандида более 1000, прокальцитониновый тест 12, на рентгенограмме сохранялась картина без положительной динамики.

На 20 сутки отмечалось снижение температуры тела до субфебрильных цифр (37,5°С), при аускультации сохранялись хрипы над всей поверхностью легких, по трахеальной трубке санировалась слизисто-мутная мокрота. На рентгенограмме зарегистрирована незначительная положительная динамика в виде уменьшения инфильтрации в верхних отделах легких, больше справа. В сыворотке крови сохранялся высокий уровень прокальцитанина, но выявлена тенденция к снижению показателей маннанового теста до 500, тем не менее была проведена эскалация антибактериальной терапии, назначен тиенам, сульцеф отменен, противогрибковая терапия продолжена в прежнем объеме.

На 25 сутки отмечалась положительная динамика в виде нормализации температуры тела, при аускультации сохранялось ослабленное дыхание, больше справа, дыхание аппаратное в режиме управления дыханием. На рентгенограмме отмечена положительная динамика в виде уменьшения воспалительной инфильтрации в верхних и средних отделах легких. При микробиологическом исследовании сыворотки крови, патологической флоры не выявлено. С целью профилактики гнойно-септических осложнений и в связи с длительностью отлучения ребенка от аппаратного дыхания была наложена трахеостома. Медикаментозная терапия продолжена препаратами кансидас и тиенам (рисунок 2).

На 30 сутки температура тела в пределах нормы, при аускультации выслушивались хрипы в нижних отделах, дыхание самостоятельное без респираторной поддержки, явлений дыхательной недостаточности не было. Отмечалась положительная рентгенологическая картина в виде значительного уменьшения инфильтрации легочной ткани, микробиологическое исследование сыворотки крови - без патологической флоры. Трахеостома закрыта. Ребенок переведен в отделение детской онкологии. Продолжена терапия тиенамом и кансидосом.

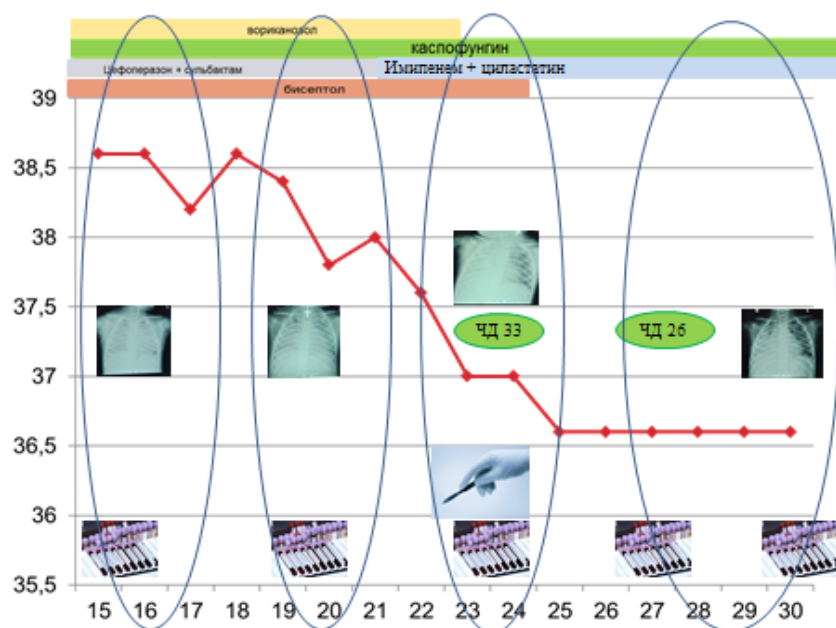


Рисунок 2. Положительная динамика показателей больного после 15 суток лечения

После разрешения двухсторонней сливной пневмонии, данных, свидетельствующих о рецидиве острого лимфобластного лейкоза, не выявлено. С октября 2016 г. продолжена терапия по протоколу ALL-MB 2015 группа А.

Заключение

Сложность лечения онкогематологических больных обусловлена несколькими факторами. Во-первых, терапия основного заболевания почти всегда сопровождается симптомами, которые трудно отличить от инфекционно-воспалительных. Во-вторых, при подозрении на развитие инфекционного осложнения в процессе лечения основного заболевания врач зачастую вынужден назначать эмпирическую терапию, которая не всегда оказывается адекватной. В-третьих, при назначении противогрибковой терапии ориентируются, прежде всего, на наиболее вероятных возбудителей. Однако в последние годы спектр грибковых патогенов стремительно расширяется. Данных для разработки рекомендаций по лечению подобных инфекций еще недостаточно. В связи с этим исключительно важное значение приобретает проблема выбора адекватной противогрибковой терапии.

Список литературы:

1. Panova N.I., Kit O.I., Kutsevalova O.Yu., Lysenko I.B., Dmitrieva V.V., Rozenko D.A., Gevorkyan Yu.A., Pak E.E., Kozyuk O.V., Kapuza E.A., Shatokhina O.N., Nikolaeva N.V., Kalabanova E.A., Mitashok I.S., Vladimirova L.Yu. Rapid identification of bloodstream infection pathogens. *Annals of Oncology*, 2018. Vol. 29, suppl. 8, mdy300.099, doi: 10.1093/annonc/mdy300.099
2. Kutsevalova O.Yu., Kit O.I., Panova N.I., Lysenko I.B., Dmitrieva V.V., Rozenko D.A., Kalabanova E.A., Mitashok I.S., Klyasova G., Shatokhin Y.V., Snezhko I.V., Martynov D.V., Malygin V.N., Korosteleva O.V., Matsuga A.A., Aslanyan K.S., Vladimirova L.Yu. Pathogens and characteristics of candidemia in hospitals of Rostov-on-Don: Multicenter study in Russia. *Annals of Oncology*, 2018. Vol. 29, suppl. 8, mdy300.100, doi: 10.1093/annonc/mdy300.100
3. Кит О.И., Куцевалова О.Ю., Лысенко И.Б., Дмитриева В.В., Шалашная Е.В., Панова Н.И. Патент на изобретение № 264756 «Способ определения этиологии лихорадки неясного генеза у онкологических больных».
4. Климов Н.Н. Микозы: диагностика и лечение. Москва ООО «Фармтек», 2017. 96 с.

УДК 616.98

РЕЗУЛЬТАТЫ ВЫЯВЛЕНИЯ МАРКЕРОВ ГРИБКОВЫХ ИНФЕКЦИЙ У ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ

Коновалова Екатерина Анатольевна

*инженер-технолог лаборатории препаратов крови Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: konovalovaea@niigpk.ru*

Вильданова Наталия Сергеевна

*младший научный сотрудник лаборатории препаратов крови Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: vildanova@niigpk.ru*

Кормищикова Елена Сергеевна

младший научный сотрудник лаборатории препаратов крови Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: kormschikova@niigpk.ru

Фокина Елена Сергеевна

кандидат медицинских наук, заместитель начальника отдела организации и сопровождения научных исследований Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: fokina@niigpk.ru

RESULTS OF DETECTION OF MARKERS OF FUNGAL INFECTIONS IN ONCOHEMATOLOGICAL PATIENTS

Ekaterina Konovalova

engineer-technologist of Blood products laboratory, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: konovalovaea@niigpk.ru

Nataliya Vildanova

junior Researcher of Blood products laboratory, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: vildanova@niigpk.ru

Elena Kormshchikova

junior Researcher of Blood products laboratory, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: kormschikova@niigpk.ru

Elena Fokina

PhD, Deputy Head of the Department for Organization and Support of Scientific Research, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency,

Russia, Kirov

E-mail: fokina@niigpk.ru

Аннотация.

Цель. Провести анализ результатов выявления маркеров грибковых инфекций у пациентов клиники ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России. Метод. Иммуноферментный анализ (ИФА). Результаты. Определено распределение нозологий заболеваний у пациентов с положительным результатом на антигены грибов *Aspergillus spp.* и *Candida alb.*. Медианы частот обнаружения галактоманна и маннана составили 3,4 и 4,5 %. Выводы. Антигены инвазивных микозов часто выявляются у пациентов с острым миелоидным и острым лимфобластным лейкозом. Встречаемость указанных маркеров оказалась ниже данных, опубликованных в научной литературе.

Abstract.

Background. To analyze the results of detecting markers of fungal infections in patients of the clinic of the KRIHBT. Method. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Result. Nosologies of diseases for patients with positive result for the antigens of fungi *Aspergillus spp.* and *Candida alb.*. The medians frequency of detection galactomannan and mannan were 3.4 % and 4.5 %. Conclusion. Invasive mycoses are often found in patients with acute myeloid and acute lymphoblastic leukemia. The frequency of markers was lower than the corresponding indicators published in the scientific literature.

Ключевые слова: галактоманнан; маннан.

Keywords: galactomannan; mannan.

Введение. Одним из серьезных осложнений у пациентов с гемобластозами, получающих программную полихимиотерапию, считаются грибковые инфекции. Самыми распространенными в структуре этих заболеваний являются аспергиллез, частота выявления которого достигает 12,7 % [1, с. 2332], и кандидоз с встречаемостью 5 - 20 % [1 с. 2336]. Известно, что микозы у иммунокопрометированных контингентов больных характеризуются быстрым агрессивным течением, поэтому их своевременная диагностика крайне важна для эффективного лечения. Иммуноферментное выявление грибковых антигенов галактоманнана и маннана успешно применяется для подтверждения диагноза и контроля противогрибковой терапии у онкогематологических больных.

Цель – провести анализ результатов выявления маркеров грибковых инфекций у пациентов клиники ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России.

Материалы и методы. За период с 2013 по 2020 гг. исследовано 2820 образцов сыворотки крови и лаважной жидкости. Анализ проводили методом ИФА в соответствии с инструкциями по применению наборов реагентов PLATELIA® *Aspergillus Ag Plus* и PLATELIA® *Candida Ag Plus* с использованием комплекта оборудования для ИФА (BIO-RAD Laboratories Inc.). Преаналитический этап выполняли в боксе биологической безопасности второго класса SC2 (Esco Micro Pte. Ltd.). Статистическую обработку данных осуществляли в программе STATISTICA 12.0 (Statsoft Inc.). Для сравнения частот выявления использовали критерий χ^2 при уровне значимости 0,05.

Результаты. Распределение онкогематологических нозологий среди пациентов с выявленными манновым и галактоманновым антигенами представлено на рисунке 1.

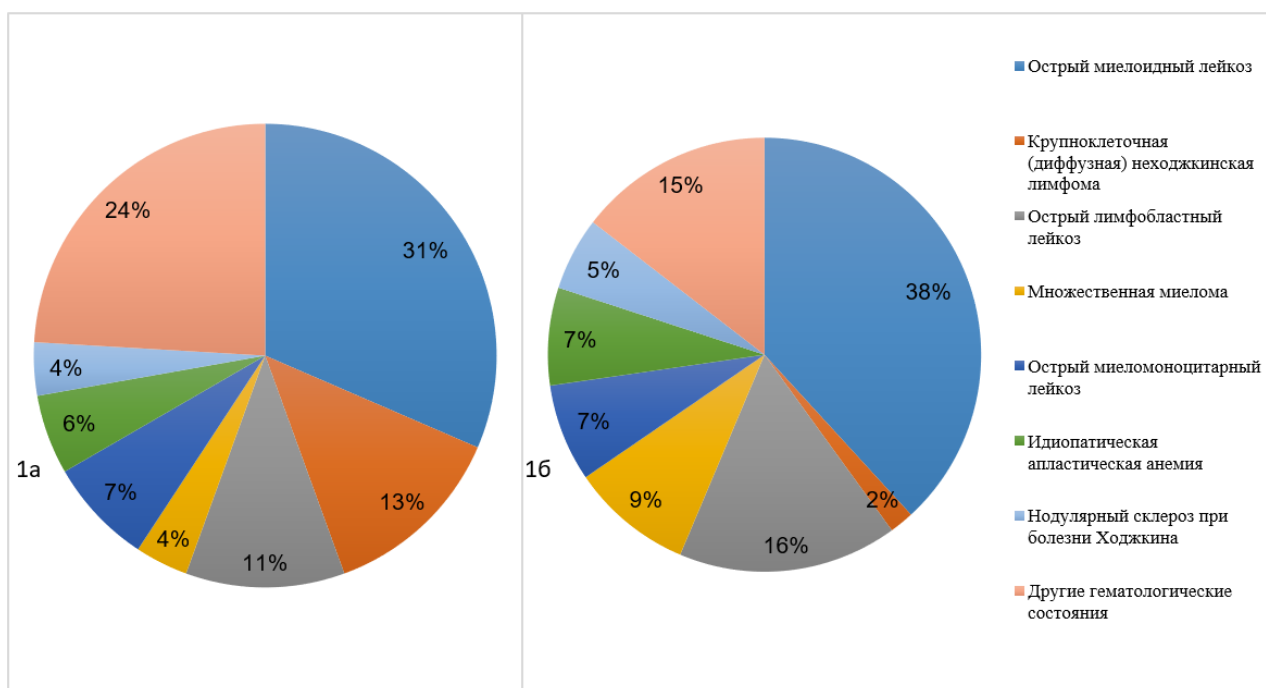


Рисунок 1. Распределение нозологий у пациентов с выявленными манновым (1а) и галактоманновым (1б) антигенами

Согласно рисунку 1 наиболее часто среди пациентов с положительным манновым антигеном выявляются заболевания следующих нозологических форм: острый миелоидный лейкоз (31 %), крупноклеточная (диффузная) неходжкинская лимфома (13 %), острый лимфобластный лейкоз (11 %), с галактоманновым антигеном – острый миелоидный лейкоз (38 %), острый лимфобластный лейкоз (16 %), множественная миелома (9 %).

Результаты мониторинга антигенов инвазивных микозов представлены на рисунке 2.

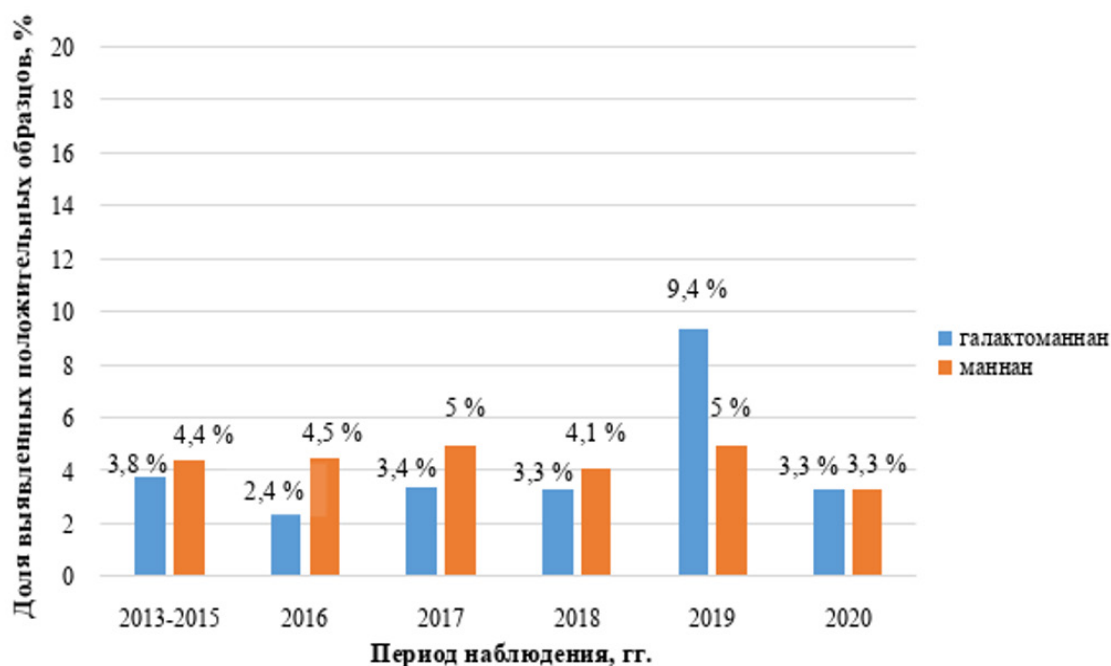


Рисунок 2. Результаты мониторинга антигенов инвазивных микозов у пациентов клиники ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России за период с 2013 по 2020 гг.

Как видно из рисунка 2, частота выявления галактоманнана варьировала от 2,4 % до 9,4 % (Me = 3,4), маннана – от 3,3 % до 5 % (Me = 4,5). При этом выявляемость галактоманнана в 2019 г., составившая 9,4 %, была значительно выше в сравнении с усредненной частотой за остальные годы наблюдения ($p = 0,0182$). В 2020 г. произошло снижение выявляемости до значения, близкого к медиане за весь период исследования, которое составило 3,3 %.

Вывод. Установлено, что антигены инвазивных микозов наиболее часто встречаются у пациентов с острым миелоидным лейкозом и острым лимфобластным лейкозом. Определенные в ходе многолетнего мониторинга частоты встречаемости маркеров грибковых инфекций у онкогематологических больных клиники ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России оказались ниже значений соответствующих показателей, представленных в научной литературе.

Список литературы:

An Overview of the Management of the Most Important Invasive Fungal Infections in Patients with Blood Malignancies / Shariati Aref [et al.] // Infect Drug Resist. – 2020. – Vol 13. – P. 2329-2354.

ДИАГНОСТИКА ХРОМОСОМНЫХ АНОМАЛИЙ МЕТОДОМ FISH ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ В СЛУЧАЕ НИЗКОГО СОДЕРЖАНИЯ ОПУХОЛЕВЫХ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК В КОСТНОМ МОЗГЕ

Лаптева Юлия Сергеевна

младший научный сотрудник лаборатории патоморфологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: lapteva@niigpk.ru

Овсепян Ваник Абрамович

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела организации и сопровождения научных исследований Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: ovsepyan@niigpk.ru

Сарпова Мария Вадимовна

научный сотрудник лаборатории патоморфологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: sarpova@niigpk.ru

Дьяконов Дмитрий Андреевич

кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией патоморфологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: dyakonov@niigpk.ru

**DIAGNOSTICS OF CHROMOSOMAL ABNORMALITIES BY FISH
METHOD IN MULTIPLE MYELOMA IN CASE OF LOW CONTENT OF
TUMOR PLASMA CELLS IN THE BONE MARROW**

Yulya Lapteva

*junior researcher of laboratory of pathomorfology, The Federal State-Financed
Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion
under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: lapteva@niigpk.ru*

Vanik Ovsepyan

*candidate of biological science, senior researcher of
department of organisation and support of scientific research, The Federal State-
Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood
Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: ovsepyan@niigpk.ru*

Maria Sarpova

*researcher of laboratory pathomorphology, The Federal State-Financed Scientific
Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion
under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: sarpova@niigpk.ru*

Dmitriy Diakonov

*candidate of medical science, head of laboratory pathomorphology, The Federal
State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and
Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: dyakonov@niigpk.ru*

Аннотация.

Цель. Разработать способ, повышающий информативность диагностики хромосомных аномалий методом FISH при множественной миеломе в случае низкого содержания опухолевых плазматических клеток в костном мозге. Исследовать взаимосвязь между размером ядер клеток костного мозга и наличием в них хромосомных аномалий. Метод: флуоресцентная *in situ* гибридизация. Результат. Установлена взаимосвязь между размером ядер клеток костного мозга и наличием в них хромосомных нарушений. Вывод. Разработан способ

диагностики хромосомных аномалий, заключающийся в избирательной FISH-оценке ядер, имеющих диаметр ≥ 9 мкм.

Abstract.

Background. To develop a method to raise the informativity of diagnostics of chromosomal abnormalities by FISH in multiple myeloma in case of low content of plasma cells. To research the correlation between the nuclei's size and the presence of chromosomal abnormalities to them. **Methods:** fluorescence *in situ* hybridization — FISH. **Result.** The correlation between the size of the nuclei of bone marrow cells and the presence of chromosomal abnormalities to them had been determined. **Conclusion.** The method consists of selective FISH-analyzing of interphase nuclei with diameter ≥ 9 μm .

Ключевые слова: множественная миелома, FISH, хромосомные аномалии, плазматические клетки.

Keywords: multiple myeloma, FISH, chromosomal abnormalities, plasma cells.

Множественная миелома (ММ) – В-клеточная злокачественная опухоль, морфологическим субстратом которой являются плазматические клетки (ПК), продуцирующие моноклональный иммуноглобулин. Распространенность ММ составляет приблизительно 1 % среди всех злокачественных опухолей и до 13 % всех опухолей кроветворной и лимфоидной тканей. В России в 2017 г. заболеваемость составила 2,8 на 100 тыс. населения [1, с. 306].

Биологические и клинические особенности ММ связаны с хромосомными аномалиями, в частности, t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23), t(14;20)(q32;q12), +1q21, del(1p) и del(17p), которые в большинстве исследований ассоциировались с высоким риском прогрессирования и низкой выживаемостью пациентов. Информативность стандартного цитогенетического исследования на начальных стадиях ММ не превышает 35% ввиду низкой митотической активности ПК и часто их низкого содержания в аспирате костного мозга [5, с. 3554]. Кроме того, разрешающая способность светового микроскопа не позволяет идентифицировать хромосомные перестройки величиной менее 4 Мб [2, с. 162-182]. Отмеченных недостатков лишена диагностика хромосомных аномалий

в интерфазных клетках костного мозга с помощью метода флуоресцентной *in situ* гибридизации (fluorescence *in situ* hybridization — FISH), основанного на комплементарном связывании ДНК-последовательностей зонда с ДНК-последовательностями образца. При низком содержании (< 20 %) плазматических клеток в аспиратах костного мозга исследование с помощью указанного метода неинформативно [6, с. 1274]. В таком случае FISH-исследование обычно проводят после предварительной иммуномагнитной сепарации ПК или совместно с окрашиванием цитоплазматических иммуноглобулинов названных элементов с использованием антител, меченных флуорохромом [6, с. 1273]. Существенными ограничениями данных методических подходов являются необходимость использования дорогостоящих расходных материалов и трудоемкость. К недостаткам подхода с применением иммуномагнитной сепарации следует отнести также необходимость в дополнительном оборудовании и значительную потерю клеток в процессе очистки ПК.

Цель работы – разработка простого и экономичного способа FISH-диагностики хромосомных аномалий при ММ в случае низкого содержания опухолевых ПК в костном мозге.

Материалы и методы. В исследование включены 50 больных ММ, лечившихся в период с 2012 по 2020 гг. в Кировском НИИ гематологии и переливания крови. Исследование клеток костного мозга на наличие хромосомных перестроек проводилось молекулярно-цитогенетическим методом (FISH) по протоколам производителя «Kreatech» с использованием ДНК-зондов: IGH (14q32) Break, MYEOV/IGH t(11;14) Fusion, FGFR3/IGH t(4;14) Fusion, MAF/IGH t(14;16) Fusion, DLEU1 (13q14) / 13qter, TP53 (17p13) / SE17, 1q21 / SRD (1p36). Денатурацию и гибридизацию образцов выполняли с помощью гибридизационной системы «ThermoBrite» («DAKO», США). Анализ препаратов осуществляли на флуоресцентном микроскопе Axio Scope A1 («Carl Zeiss», Германия), оснащенной камерой для получения цифровых изображений препаратов. В каждом случае проанализировано не менее 200 интерфазных ядер с четкими сигналами. Результаты FISH-анализа описывали в соответствии с Международной системой цитогенетической номенклатуры [4, с. 106-118].

Согласно рекомендациям Европейского сообщества по изучению множественной миеломы (European myeloma network Recommendations for FISH in multiple myeloma), для проведения FISH-исследований приняты следующие

пороговые значения: 10% – при исследовании амплификации локуса S100A10 (1q21) и транслокаций t(4;14)(p16;q32), t(11;14)(q13;q32), t(14;16)(q32;q23); 20% – при исследовании делеций локусов DLEU1 (13q14) и TP53 (17p13) [3, с. 25].

Фотографии образцов получены с помощью программы GenASIs FISH View. Диаметры интерфазных ядер измеряли в программе Rising View 3.7. Статистическая обработка данных проводилась с использованием компьютерной программы MedCalc, статистический метод – ROC-анализ.

Результаты. На основании анализа более 12 000 ядер клеток костного мозга у 50 пациентов с ММ построена ROC-кривая (рисунок 1), которая отражает взаимосвязь между размерами ядер и наличием в них хромосомных аномалий. В результате ROC-анализа получено значение диаметра ядра клетки (9 мкм), при котором достигается максимальная чувствительность (70,9%) и специфичность (62,2%) метода. Согласно полученным результатам, избирательная FISH-оценка интерфазных ядер клеток костного мозга, имеющих диаметр ≥ 9 мкм, позволяет повысить информативность FISH-диагностики хромосомных аномалий при ММ в случае низкого содержания опухолевых ПК в костном мозге.

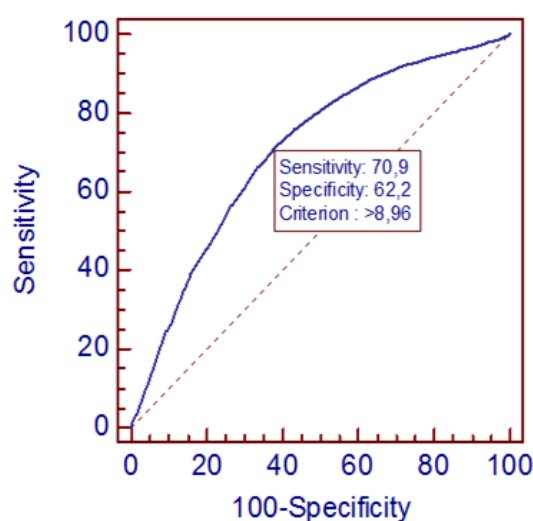


Рисунок 1. Взаимосвязь между размерами ядер клеток костного мозга и наличием в них хромосомных аномалий (ROC-анализ)

Выводы. Разработан способ, повышающий информативность FISH-диагностики хромосомных аномалий при множественной миеломе в случае низкого содержания опухолевых плазматических клеток в костном мозге, заключающийся в избирательной FISH-оценке интерфазных ядер, имеющих диаметр ≥ 9 мкм.

Список литературы:

1. Менделеева Л.П., Вотякова О.М., Рехтина И.Г. Множественная миелома // Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению злокачественных лимфопролиферативных заболеваний; под ред. И.В. Поддубной, В.Г. Савченко. М., 2018. 470 с.
2. Czepulkowski B. Analyzing Chromosomes / B. Czepulkowski. – Oxford: BIOS Scientific Publishers Limited, 2001. 205 p.
3. Detection of chromosomal aberrations in multiple myeloma: Abstracts and Application Manual // Cytogenetic Workshop. Brno, 2006. 30 p.
4. McGowan-Jordan J., Simons A., Schmid M. ISCN 2016: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016): recommendations of the International Standing Committee on Human Cytogenomic Nomenclature including new sequence-based cytogenetic nomenclature developed in collaboration with the Human Genome Variation Society (HGVS) sequence variant description working group (Basel). New York: Karger, 2016. 140 p.
5. Relationship of patient survival and chromosome anomalies detected in metaphase and/or interphase cells at diagnosis of myeloma / G. W. Dewald, T. Therneau, D. Larson [et al.] // Blood, 2005. Vol. 106, № 10. P. 3553-3558.
6. Report from the European Myeloma Network on interphase FISH in multiple myeloma and related disorders / F.M. Ross, H. Avet-Loiseau, G. Ameye [et al.] // Haematologica, 2012. Vol. 97(8). P. 1272-1277.

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНАЦИИ БОРТЕЗОМИБА,
ЦИКЛОФОСФАНА И ДЕКСАМЕТАЗОНА В ПЕРВОЙ ЛИНИИ
ТЕРАПИИ ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ:
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОБСТВЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ И
МЕЖДУНАРОДНОГО ОПЫТА**

Лучинин Александр Сергеевич

к. м. н., старший научный сотрудник отдела организации и сопровождения научных исследований ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России, РФ, г. Киров

E-mail: glivec@mail.ru

Минаева Наталья Викторовна

к. м. н., заместитель директора по лечебной работе ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России, РФ, г. Киров

E-mail: mnvgem@gmail.com

**THE EFFICACY OF COMBINATION BORTEZOMIB,
CYCLOPHOSPHAMIDE AND DEXAMETHASONE IN THE 1ST
LINE OF THERAPY IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA: A
COMPARATIVE ANALYSIS OF OWN RESULTS AND INTERNATIONAL
EXPERIENCE**

Alexander Luchinin

PhD, Senior Researcher of the Department of Organization and Support of Scientific Research, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency,

Russia, Kirov

E-mail: glivec@mail.ru

Natalia Minaeva

PhD, Deputy Director for Clinical Work, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency, Russia, Kirov

E-mail: mnvgem@gmail.com

Аннотация.

Цель исследования – сравнить эффективность лечения по схеме VCD пациентов с впервые диагностированной ММ в условиях реальной клинической практики с результатами международных исследований. В исследование включили 72 пациента, которые получали лечение в период с 2015 по 2020 гг. Из них 58% женщины, 42% мужчин. Медиана возраста – 59. Общий ответ на лечение составил 78%, включая 39% очень хороших ответов и 12% полных ответов на лечение. Эффективность терапии VCD больных в ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России соответствует результатам лечения, описанным в медицинской научной литературе.

Abstract.

Our aim was to compare response rate after induction treatment in a real-world setting with data of other multicenter clinical trials. A total of 72 patients were included, 58% were women, 42% – men. The treatment period was since 2015 to 2020 years. The median of number of VCD cycles was 6 (2-13 range). The overall response rate (\geq partial response) was 78% (56 patients), including 39% (28 patients) of very good response rate and 12% (9 patients) of complete response. The data obtained are consistent to the results of VCD therapy according to a literature review.

Ключевые слова: множественная миелома; бортезомиб.

Keywords: multiple myeloma; bortezomib.

Множественная миелома (ММ) – второе по частоте онкогематологическое заболевание в мире. Это В-клеточная опухоль, характеризующаяся клональной пролиферацией плазматических клеток в костном мозге, увеличением уровня моноклонального протеина в крови и/или моче. Клинические признаки заболевания включают в себя поражение почек, костей, анемию и инфекционные осложнения [2, с.122]. Хотя заболевание остается некурабельным, результаты лечения существенно улучшились в последние 10–15 лет, что связано с активным применением высокодозной химиотерапии и новых лекарственных препаратов, таких как ингибиторы протеасом, в том числе в комбинации с химиопрепаратами. Современная терапия эффективно снижает объем опухолевой массы, что

ведет к достижению глубоких ответов на лечение и является основанием для продолжительной ремиссии и общей выживаемости больных ММ. Одним из режимов является комбинация бортезомиба, циклофосфана и дексаметазона (VCd), которая на сегодняшний день наиболее широко используется в России в качестве первой линии терапии [1, с.12]. Цель ретроспективного исследования – сравнить эффективность лечения по схеме VCd пациентов с впервые диагностированной ММ в условиях реальной клинической практики с результатами международных исследований.

Материалы и методы

В исследование включили 72 пациента, которые получали лечение в ФГБУН КНИИГиПК с 2015 по 2020 гг. Из них 42 (58%) женщины, 30 (42%) мужчин. Медиана возраста – 59 лет (диапазон 38–73 лет). Медиана количества циклов VCd – 6 (диапазон 2–13). Доминирующим иммунохимическим вариантом ММ у 40 (56%) пациентов являлся IgG. Вариант IgA диагностирован у 19 (26%) пациентов, вариант Бенс Джонса – у 10 (13%) пациентов, несекретирующая ММ – у 3 (4%). У 1 пациента был редкий тип секреции IgD.

Схема VCd использовалась в нескольких модификациях. Самая распространенная из них включала в себя: бортезомиб 1.3 мг/м² подкожно в 1, 4, 8, 11 дни; циклофосфамид 400 мг/м² внутривенно 1 раз в 2 недели (1 и 8 дни) или 200 мг/м² 2 раза в неделю (1, 4, 8, 11 дни); дексаметазон 20 мг перорально в 1, 2, 4, 5, 8, 9, 11, 12-й дни цикла. Продолжительность каждого цикла составляла 21 день.

Для поиска научных медицинских публикаций, посвященных терапии VCd, использован веб-сайт hem-onc.ru. Критериями поиска являлись диагноз впервые диагностированной ММ и терапия по схеме VCd. В анализ включено 8 публикаций за период с 2012 по 2020 гг. Из них 5 работ описывали результаты 2 и 3 фазы клинических исследований терапии VCd [3, с.1727, 4, с.590, 6, с. 117, 8, с. 2129, 10, с.4377], а 3 публикации посвящены ретроспективным одноцентровым исследованиям [5, с.248, 7, с. 330, 9, с.8217]. Выполнен анализ данных, включающих в себя количество пациентов, частоту общего, очень хорошего частичного и полного ответов на лечение. Суммарно в анализ включили 1582 пациента с ММ, получивших терапию VCd в качестве 1 линии лечения.

Статистический анализ выполнен с использованием методов описательной

статистики и непараметрического критерия Фишера. Уровнем статистической значимости являлось значение $p < 0,05$.

Результаты

При оценке результатов лечения пациентов в ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России установлено, что общий ответ на этапе индукции ремиссии по схеме VCD (\geq частичный ответ) составил 78% (56 из 72 пациентов), включая 39% (28 пациентов) очень хороших ответов и 12% (9 пациентов) полных ответов на лечение.

Согласно проанализированным медицинским публикациям, общий ответ на лечение по схеме VCD достигли 1269 из 1547 (82%) пациентов, очень хороший частичный ответ – 256 из 677 (38%) пациентов, а полный ответ – 44 из 610 (7%) больных. Собственные результаты сопоставили с литературными данными методом непрямого сравнения при помощи критерия Фишера. Частота общего ответа при лечении пациентов в рамках своего опыта (78%) и по данным литературы (82%) статистически значимо не отличались между собой ($p=0.76$). Частоты очень хорошего частичного ответа (39% и 38%) и полного ответа (12% и 7%) в реальной клинической практике и по данным литературы также статистически значимо не отличались ($p=0.89$ и $p=0.16$ соответственно).

Заключение

Эффективность терапии VCD больных в ФГБУН КНИИГиПК соответствует результатам лечения, описанным в медицинской научной литературе. Комбинация VCD является эффективным вариантом лечения первой линии у пациентов с ММ.

Список литературы:

1. Лучинин А.С., Загоскина Т.П. Эффективность применения комбинации бортезомиба, мелфалана и преднизолона при множественной миеломе // Гематология и трансфузиология., 2009. Т. 54. №4. С. 9-13.

2. Edvan De Queiroz Crusoe, Fabiana Higashi, Gracia Martinez et al. Superiority of the triple combination of bortezomib, cyclophosphamide and dexamethasone versus cyclophosphamide, thalidomide and dexamethasone in patients with newly diagnosed multiple myeloma, eligible for transplantation // Hematol Transfus Cell Ther., 2019. Vol. 42. p. 118-124

3. E K Mai, U Bertsch, J Dürig et al. Phase III trial of bortezomib, cyclophosphamide and dexamethasone (VCD) versus bortezomib, doxorubicin and dexamethasone (PAd) in newly diagnosed myeloma // *Leukemia*, 2015. Vol. 29. p. 1721-1729

4. Hermann Einsele, Monika Engelhardt, Christoph Tapprich et al. Phase II study of bortezomib, cyclophosphamide and dexamethasone as induction therapy in multiple myeloma: DSMM XI trial // *Br J Haematol.*, 2017. Vol. 179. p. 586-597

5. Katarina Uttervall, Johanna Borg Bruchfeld, Charlotte Gran et al. Upfront bortezomib, lenalidomide, and dexamethasone compared to bortezomib, cyclophosphamide, and dexamethasone in multiple myeloma // *Eur J Haematol.*, 2019. Vol. 103. p. 247-254

6. Keisuke Tanaka, Shigeo Toyota, Megumi Akiyama et al. Efficacy and Safety of a Weekly Cyclophosphamide-Bortezomib-Dexamethasone Regimen as Induction Therapy Prior to Autologous Stem Cell Transplantation in Japanese Patients with Newly Diagnosed Multiple Myeloma: A Phase 2 Multicenter Trial // *Acta Haematol.*, 2019. Vol. 141. p. 111-118

7. Meaghan L Khan, Craig B Reeder, Shaji K Kumar et al. A comparison of lenalidomide/dexamethasone versus cyclophosphamide/lenalidomide/dexamethasone versus cyclophosphamide/bortezomib/dexamethasone in newly diagnosed multiple myeloma // *Br J Haematol.*, 2012. Vol. 156. p. 326-333

8. Noemi Horvath, Andrew Spence, Melita Kenealy et al. Phase 3 study of subcutaneous bortezomib, thalidomide, and prednisolone consolidation after subcutaneous bortezomib-based induction and autologous stem cell transplantation in patients with previously untreated multiple myeloma: the VCAT study // *Leuk Lymphoma.*, 2019. Vol. 60. p. 2122-2133

9. Rafiye Ciftciler, Hakan Goker, Yahya Buyukasik et al. Comparison of bortezomib cyclophosphamide- dexamethasone versus bortezomib-dexamethasone based regimens in newly diagnosed multiple myeloma patients // *Hematol Rep.* 2020. Vol. 12. p. 8267

10. Shaji Kumar, Ian Flinn, Paul G Richardson et al. Randomized, multicenter, phase 2 study (EVOLUTION) of combinations of bortezomib, dexamethasone, cyclophosphamide, and lenalidomide in previously untreated multiple myeloma // *Blood*, 2012. Vol. 119. p. 4375-4382

**КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ СОДЕРЖАНИЕМ CD8-ПОЗИТИВНЫХ
Т-ЛИМФОЦИТОВ И ТЕЧЕНИЕМ НОДУЛЯРНОГО СКЛЕРОЗА
ЛИМФОМЫ ХОДЖКИНА**

Минаев Максим Сергеевич

*младший научный сотрудник лаборатории патоморфологии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский
научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: minaev@niigpk.ru*

Перфилова Елена Александровна

*кандидат ветеринарных наук, младший научный сотрудник
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский
научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: perfilova@niigpk.ru*

Дьяконов Дмитрий Андреевич

*кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией патоморфологии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский
научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: dyakonov@niigpk.ru*

**CORRELATION BETWEEN CONTENT OF CD8-POSITIVE
T-LYMPHOCYTES WITH THE COURSE OF NODULAR SCLEROSIS OF
HODGKIN LYMPHOMA**

Maksim Minaev

*junior Researcher, Laboratory of Pathomorphology The Federal State-Financed
Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion
under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: minaev@niigpk.ru*

Elena Perfilova

candidate of Veterinary Sciences, Junior Researcher, Laboratory of Pathomorphology The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: perfilova@niigpk.ru

Dmitry Dyakonov

candidate of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Pathomorphology The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: dyakonov@niigpk.ru

Аннотация.

Работа посвящена изучению корреляции содержания CD8-антигенпозитивных цитотоксических Т-лимфоцитов с течением нодулярного склероза лимфомы Ходжкина. Надпороговый уровень экспрессии маркера ($\geq 11,2\%$ экспрессирующих клеток) в 2,7 раза чаще выявляется у больных с рефрактерностью или с минимальным ответом на лечение, чем у пациентов с полным ответом на I линию терапии (BEACOPP-14 и ABVD). Установленный критерий может служить дополнительным морфологическим предиктором течения заболевания для стратификации больных на группы риска на этапе диагностики, определения персонализированного подхода к лечению.

Abstract.

The article is devoted to the study of the correlation of the relative content of CD8-antigen-positive cytotoxic T-lymphocytes with the course of nodular sclerosis Hodgkin lymphoma. A suprathreshold level of marker expression ($\geq 11.2\%$) is 2.7 times more likely to be detected in patients with refractoriness or with minimal response to treatment than in patients with a complete response to the frontline chemotherapy (BEACOPP-14 and ABVD). This criterion could be used as an additional morphological predictor of the course of the disease for stratification of patients into risk groups at the diagnostic stages, for determining a personalized approach to treatment.

Ключевые слова: нодулярный склероз; микроокружение; CD8; цитотоксические лимфоциты.

Keywords: nodular sclerosis; microenvironment; CD8 Maksim cytotoxic lymphocytes.

Нодулярный склероз классической лимфомы Ходжкина является моноклональной лимфоидной неоплазией, происходящей из В-клеток [2, с.47]. Около 15-20% пациентов рефрактерны к первой линии терапии или имеют ранний рецидив в течение первого года после завершения лечения [5, с.2]. В дальнейшем это приводит к необходимости проведения аутологичной или аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток [3, с.234].

Известно, что в опухолевой ткани обнаруживается значительное количество клеток реактивного микроокружения, представленного Т- и В-лимфоцитами, нейтрофилами, эозинофилами, плазмócитами, а также макрофагально-гистиоцитарными элементами [4, с.11].

В гистологических срезах к опухолевым кариоцитам Рид-Штернберга и Ходжкина плотно прилегают различные субпопуляции Т-лимфоцитов (CD4, CD8 и др.), которые, взаимодействуя с макрофагами, обеспечивают лизис клеток-мишеней [6, с.1]. В настоящее время остается актуальным установление взаимосвязи между опухолевым субстратом и элементами микроокружения.

По данным ряда авторов, высокое содержание цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8) в сыворотке крови ассоциируется с неблагоприятным течением лимфомы Ходжкина [1, с.12-13]. Однако работы единичные, выполнялись на циркулирующих в крови Т-клетках, носили описательный характер. Результаты исследований, направленных на оценку количественного содержания лимфоцитов, экспрессирующих CD8 и определение их порогового уровня в биопсийном материале при данной нозологии в доступной литературе, не найдено. Неизученным остается вопрос зависимости относительного количества CD8-позитивных элементов в гистопрепаратах лимфатических узлов от характера течения заболевания.

Цель работы – установить корреляционную зависимость между относительным числом CD8+ Т-клеток в опухолевом микроокружении и

течением нодулярного склероза лимфомы Ходжкина.

Для исследования использовались парафиновые блоки лимфоузлов (эксцизионная биопсия) 50 первичных пациентов с диагнозом лимфома Ходжкина, нодулярный склероз, проходивших лечение в клинике ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России в период с 2006 по 2018 гг. По степени ответа на I линию стандартной химиотерапии по протоколам BEACOPP-14 и ABVD обследуемые разделены на 2 группы. Первую группу (n = 19) составили больные, достигшие полной ремиссии, вторую (n = 31) - резистентные к первой линии терапии или с минимальным ответом на нее.

Для идентификации цитотоксических Т-лимфоцитов использовался иммуногистохимический метод окрашивания моноклональным антителом CD8 (клон C8/144В, Дако, Дания) по стандартной методике. Подсчет относительного числа CD8+ лимфоцитов и морфологический анализ выполнялись с помощью светового микроскопа «Leica DM 1000» (Германия) со встроенной фото-видеокамерой и программы анализа изображений ImageScope Color, версии M, с окулярами x10, объективом x100.

Статистический анализ полученных данных проводился с помощью программного пакета STADIA. При сравнении количественных показателей использовался непараметрический критерий Манна-Уитни. При оценке качественных признаков использовался метод χ^2 Пирсона с поправкой Йетса; в случаях малого числа наблюдений - точный двусторонний критерий Фишера (F). Для определения значимости модели применялся ROC-анализ. Результаты исследований представлены в виде медианы и интерквартильного размаха [Q1 - Q3]. Различия между показателями считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Выявлены достоверные различия между группами по относительному содержанию CD8-позитивных клеток в опухолевом микроокружении и ответом на терапию I линии. Так, у больных, достигших полной ремиссии, доля экспрессирующих CD8-лимфоцитов значительно ниже, чем у пациентов 2 группы: 9,3% (7,6 - 10,2) против 11,6% (8,6 - 14,4) соответственно ($p=0,02$).

При проведении ROC-анализа установлен пороговый уровень Т-лимфоцитов, экспрессирующих CD8. Его значение в точке cut-off соответствовало 11,2%. У больных 1 группы подпороговое значение доли CD8+ элементов (<11,2%)

отмечалось в 78,6% случаев, против 40,7% - во второй. Площадь под ROC-кривой составила 0,715 (95% ДИ 0,552-0,878); полученная модель статистически значимая ($p=0,01$). Надпороговый уровень ($\geq 11,2\%$) встречался в 2,7 раза чаще у обследуемых с рефрактерностью к I линии терапии, чем у пациентов первой группы: 59,3% и 21,4% соответственно; $p=0,040$. При значении показателя выше порогового или равного ему увеличивались шансы развития неблагоприятного течения заболевания (OR = 5,3; CI 95% = 1,2 - 23,6).

Таким образом, доля CD8+ клеток у обследуемых 1 группы достоверно ниже, чем во 2 группе. Пороговый уровень относительного содержания CD8+ лимфоцитов составил 11,2%. Данный параметр может служить дополнительным морфологическим критерием прогнозирования течения заболевания и стратификации больных на группы риска на этапах диагностики, а также определения персонализированного подхода к лечению.

Список литературы:

1. Медведовская Е.Г. Клинические и биологические факторы прогноза при лимфоме Ходжкина / Дис. ... кандидата мед. наук, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина» Минздрава России. - Москва, 2018. - 124с.
2. Минаев М.С., Перфилова Е.А., Дьяконов Д.А., Кузьмин А.А., Павлова Н.Б., Коновалов Д.М., Парамонов И.В. Перспективы прогнозирования течения нодулярного склероза лимфомы Ходжкина путем морфометрического анализа CD163-положительных макрофагов. *Онкогематология*. 2021;16(1):47-53. <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2021-16-1-47-53>
3. Мочкин Н.Е., Саржевский В.О., Дубинина Ю. Н. Результаты лечения классической лимфомы Ходжкина, включающего высокодозную химиотерапию с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток, в НМХЦ им. Н.И.Пирогова //Клиническая онкогематология, 2018. №11. С.234–240.
4. Поддубная И.В., Савченко В.Г. Лимфома Ходжкина. В кн.: Российские рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. М.: Буки Веди, 2018. - 356с.
5. Рукавицын А. А. Лимфома Ходжкина: новые прогностические и дифференциально-диагностические возможности / Дис. ... кандидата мед. наук. - Москва, 2018. - 89с.

6. Тумян Г.С., Тупицын Н.Н., Пробатова Н.А. Иммунологические критерии прогноза при лимфоме Ходжкина: Материалы VIII Российского онкологического конгресса [электронный ресурс]. Режим доступа. URL: <https://rosoncweb.ru/library/congress/ru/08/21.php> (дата обращения 02.03.2021).

УДК: 616-006.446.8:616.155.392.8

ИНФЕКЦИИ ИНДУКЦИОННОГО ПЕРИОДА ХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПРОМИЕЛОЦИТАРНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Никитин Евгений Николаевич

*д.м.н, профессор кафедры «Факультетская терапия с курсами эндокринологии и гематологии» Ижевской государственной медицинской академии, РФ, г. Ижевск
E-mail: nikitinen@list.ru*

Грязева Елизавета Михайловна

*студентка 6 курса, Ижевской государственной медицинской академии, РФ, г. Ижевск
E-mail: liza.gryazeva.97@mail.ru*

Ходырев Кирилл Леонидович

*студент 6 курса, Ижевской государственной медицинской академии, РФ, г. Ижевск
E-mail: hodyreff.kirill@yandex.ru*

INFECTIONS OF THE INDUCTION PERIOD OF CHEMOTHERAPY IN PATIENTS WITH ACUTE PROMYELOCYTAL LEUKEMIA

Evgeny Nikitin

*Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Faculty Therapy with Courses of Endocrinology and Hematology, Izhevsk State Medical Academy, Russia, Izhevsk
E-mail: nikitinen@list.ru*

Elizaveta Gryazeva

6th year student, Izhevsk State Medical Academy, Russia, Izhevsk

E-mail: liza.gryazeva.97@mail.ru

Kirill Khodyrev

6th year student, Izhevsk State Medical Academy, Russia, Izhevsk

E-mail: hodyreff.kirill@yandex.ru

Аннотация.

Цель. Изучить характер инфекций в периоде индукционной терапии у больных острым промиелоцитарным лейкозом и проблемы антибиотикорезистентности микроорганизмов. Методы. Проанализированы истории болезни 22 пациентов, получивших 1-2 курса индукционной терапии по схеме «7+3+АТРА». Результаты. Частота инфекций мочевых путей – у 63,6% больных, мукозит – у 54,6%, пневмония – у 27,3%, сепсис – у 22,7%, фебрильная нейтропения – у 9,1%. Выводы. Смерть от инфекций чаще наблюдаются у больных с исходным лейкоцитозом. Показано, что 73,8% возбудителей инфекций являются грамположительными палочками, а 26,2% - грамотрицательными. Характерен рост числа штаммов микробов, резистентных к антибиотикам.

Abstract.

Background. Survey is aimed at studying the nature of infectious complications in induction therapy patients with acute promyelocytic leukemia (APL), and antibiotic resistance of the microorganisms. Methods. Clinical records of 22 patients, after 1-2 courses of induction therapy under “7+3+ATRA” regimen, were analyzed. Results. Structure of infectious complications: urinary infection was found in 63.6% of the patients, mucositis – in 54.6%, pneumonia – in 27.3%, septicemia – in 22.7%, febrile neutropenia – in 9.1%. Conclusion. Death by infectious complications is more frequently observed in patients with initial leukocytosis. Gram-positive bacteria amount to 73.8% of infectious agents, while gram-negative rods amount to 26.2%. A rise in number of antibiotic resistant microbial strains was observed.

Ключевые слова: острый промиелоцитарный лейкоз; инфекционные осложнения; антибиотикорезистентность.

Key words: acute promyelocytic leukemia; infectious complications; antibiotic resistance.

Актуальность проблемы. Новейшие методы программного лечения острого промиелоцитарного лейкоза (ОПЛ) позволяют достичь высоких показателей выживаемости пациентов. Однако остро стоит проблема возникновения тяжелых инфекционных осложнений, нередко приводящих к летальным исходам. Частота инфекционных осложнений при цитостатической терапии гемобластозов составляет от 80% и более [1, с. 117, 2, с. 5, 3, с.35].

Цель. Изучить характер инфекционных осложнений в периоде индукционной терапии у больных ОПЛ и проблемы антибиотикорезистентности микроорганизмов.

Материал и методы. Проанализированы 22 клинических случая ОПЛ. Среди пациентов женщин было 19, мужчин – 3 в возрасте 22 – 66 ($41,70 \pm 2,86$) лет. Диагностику и лечение пациентов с ОПЛ осуществляли согласно национальным клиническим рекомендациям [3, с.4]. Пациенты получали 1-2 курса стандартной индукционной химиотерапии по схеме «7+3+АТРА» (цитарабин, даунорубицин, весаноид). Ремиссии после 1 курса химиотерапии получены у 16 (72,7%) пациентов. Летальных исходов было 6 (27,3%). Длительность миелотоксического агранулоцитоза составила 3 – 27 ($16,20 \pm 1,54$) дней. Для выявления возбудителей инфекций проведен анализ бактериологических исследований 312 биологических проб крови, мочи, мазков из зева, мокроты, кала. Статистическая обработка данных осуществлена по программе MSExcel 2010.

Результаты и обсуждение. Структура инфекционных осложнений: инфекция мочевых путей – у 14 (63,60%), мукозит – у 12 (54,60%), пневмония – у 6 (27,30%), септицемия – у 5 (22,70%), фебрильная нейтропения – у 2 (9,1%), псевдомембранозный колит (токсины А и В *S.difficile*) - у 1 (4,5%). Инфекции у пациентов возникали на фоне глубокого агранулоцитоза ($0,20-0,40 \times 10^9/\text{л}$). Возбудителями пневмонии была смешанная флора: *Enterococcus faecium* (*E. faecium*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *Pseudomonas aeruginosa* (*Ps. aeruginosa*), что согласовалось с данными литературы [4, с.480, 5, с.51]. В крови выявлено 8 положительных проб у 5 пациентов. Наиболее частыми возбудителями сепсиса были *Acinetobacter baumannii* (*Acinetobacter baum.*) и *Ps. aeruginosa*. Из мокроты у 4 пациентов высевались в равной степени *E. faecium* и *Ps. aeruginosa*. У 9 пациентов (12 положительных проб) частыми возбудителями инфекции были *Escherichia coli* (*E.coli*) (35,0%) и *K pneumoniae* (14,0%). В 22 мазках из глотки у 15 человек высевались *K. pneumoniae*, *Klebsiella mobies* (*K.*

mobies) и E. coli.

У штаммов семейства энтеробактерий (E.coli и Klebsiella spp.) определялась резистентность к амоксиклаву (66,7 и 88,9% соответственно). Активность против этих бактерий сохранил цефоперазон/сульбактам, а против E.coli – карбапенемы и цiproфлоксацин. Штаммы Ps. aeruginosa оказались высокорезистентными к цефоперазон/сульбактаму, аминогликозидам, цiproфлоксацину, но остались чувствительными к карбапенемам. Acinetobacter baum. демонстрирует резистентность ко всем исследуемым антимикробным препаратам. В случае развития инфекции препаратом выбора является антибиотик – тигециклин. Среди энтерококков и стафилококков доля нечувствительных штаммов выявлялась к амоксиклаву (67-50%), цефтриаксону (100-33%), цiproфлоксацину (50%), аминогликозидам (33-17%), а у энтерококков – и к цефоперазон/сульбактаму (50%). Высокая чувствительность к энтерококкам сохранялась у карбапенемов, а у стафилококков – к карбапенемам и цефоперазон/сульбактаму.

Выводы.

1. Летальные исходы, связанные с инфекциями, достоверно чаще наблюдаются у пациентов ОПЛ с исходным гиперлейкоцитозом.
2. Среди микроорганизмов 73,8% приходится на грамположительные палочки и 26,2% - на грамотрицательные палочки.
3. Наблюдается устойчивый рост числа штаммов микроорганизмов, резистентных к антибиотикам, в том числе продуцирующих β -лактамазы расширенного спектра.

Список литературы:

1. Клясова Г.А., Коробова А.Г. Энтеробактерии с продукцией β -лактамаз расширенного спектра: источники инфицирования и значение колонизации слизистой оболочки кишечника у больных гемобластозами // Гематология и трансфузиология, 2018. Т. 63, № 2. С. 116 -123.
2. Палковский О.Л., Алексеева Л. А., Шиманов И. С. Проблемы терапии нозокомиальной энтерококковой инфекции // Проблемы здоровья и экологии, 2015. Т.4 (46). С. 4-8.
3. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Соколов А.Н., Афанасьев Б.В.

[и др.] Клинические рекомендации по диагностике и лечению острого промиелоцитарного лейкоза у взрослых // Национальное Гематологическое Общество. 2014. 44 с.

4. Paganin F., Lilienthal F., Bourdin A. Severe communityacquired pneumonia: assessment of microbial aetiologyas mortality factor // Eur. Respir. J., 2004. №24. P.779–785.

5. Wu, C.L., Chan M.C., Chang G.C.. Eliologyandcytokine expression in patients requiring mechanical ventilation due to severe community_acquired pneumonia // Med. Assoc, 2006. №105. P. 49–55.

УДК 616.419

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРЯМОГО АНТИГЛОБУЛИНОВОГО ТЕСТА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

Попонина Елена Александровна

*канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории иммуногематологии, ФГБУН
«Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания
крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров*

E-mail: senkina.elena@rambler.ru

Бутина Елена Владимировна

*докт. мед. наук, заведующий лабораторией иммуногематологии, ФГБУН
«Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания
крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров*

E-mail: butinalena@yandex.ru

Йовдий Анна Васильевна

*канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории иммуногематологии, ФГБУН
«Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания
крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров*

E-mail: annaovdii@bk.ru

Максимов Олег Дмитриевич

канд. мед. наук, врач-гематолог взрослого отделения гематологии и

*химиотерапии ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров
E-mail: oleg.maksimov.kirov@gmail.com*

DIAGNOSTIC CAPABILITIES OF POSITIVE DIRECT ANTIGLOBULIN TEST IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Elena Poponina

*MD, PhD, researcher of the laboratory of immunohematology, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: senkina.elena@rambler.ru*

Elena Butina

*MD, PhD, Head of the laboratory of immunohematology, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: butinalena@yandex.ru*

Anna Yovdiy

*MD, PhD, researcher of the laboratory of immunohematology, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: annaovdii@bk.ru*

Oleg Maksimov

*MD, PhD, hematologist, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov
E-mail: oleg.maksimov.kirov@gmail.com*

Аннотация.

Новые возможности прямого антиглобулинового теста (ПАГТ) позволяют установить класс и подкласс иммуноглобулинов, а также компонентов комплемента на поверхности эритроцитов, что имеет значение для прогнозирования развития

гемолитических осложнений у пациентов. Исследованы частота и распределение положительного ПАГТ у больных хроническим лимфолейкозом с применением реактивов и оборудования фирмы Bio-Rad, США. Установлена ключевая роль IgG1, IgG3, а также компонентов комплемента C3c, C3d в развитии иммунного гемолиза.

Abstract.

New capabilities of the direct antiglobulin test (DAT) make it possible to establish the class and subclass of immunoglobulins, as well as complement components fixed on the surface of the red blood cells, which is essential for predicting the development of hemolytic complications. The frequency and characteristics of positive DAT in patients with chronic lymphocytic leukemia were studied using reagents and equipment made by Bio-Rad, USA. The role of IgG1, IgG3 and complement components C3c, C3d in the development of immune hemolysis has been established.

Ключевые слова: прямой антиглобулиновый тест; класс и подкласс иммуноглобулинов; иммунный гемолиз; хронический лимфолейкоз.

Keywords: direct antiglobulin test; class and subclass of immunoglobulins; immune hemolysis; chronic lymphocytic leukemia.

Актуальность. Течение хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) часто осложняется аутоиммунными нарушениями, в том числе аутоиммунной гемолитической анемией (АИГА) [1, с.441]. Важную роль в диагностике аутоиммунного гемолиза играет прямой антиглобулиновый тест (ПАГТ) [2, с.426]. Применение моноклональных реактивов при проведении ПАГТ позволяет выявить наличие аутоантител и комплемента на мембране эритроцитов, а также определить класс и подкласс антител, участвующих в патологическом процессе, что существенно расширяет диагностический потенциал теста [3, с.58]. Аутоантитела к эритроцитам могут быть представлены иммуноглобулинами (Ig) классов G, A, M. От класса иммуноглобулинов зависит оптимальная температура их реагирования, а также способность связывать комплемент и взаимодействовать с рецепторами макрофагов в селезенке и печени, что коррелирует с тяжестью вызываемых ими гемолитических осложнений [4, с.305; 5, с.303]. Поэтому изучение класса

и подкласса антител, компонентов комплемента помогает получить ценную информацию, позволяющую прогнозировать возникновение гемолиза и выбрать тактику лечения пациента [6, с.707; 7, с.2979].

Цель. Определить частоту выявления и дифференцировать этиологию положительного ПАГТ у больных ХЛЛ, исследовать возможности теста как предиктора развития АИГА.

Методы. Прямой антиглобулиновый тест проводился с применением оборудования (автоматический иммуногематологический анализатор ИН-1000) и реактивов фирмы Bio-Rad (США). Для скрининга использовали карты DiaMed-ID-LISS/Coombs Anti-IgG+C3d. При получении положительного результата ПАГТ дифференцировали классы иммуноглобулинов, компоненты комплемента, подклассы IgG с помощью карт DC-Screening I и DAT IgG1/IgG3 (Bio-Rad (США)). Наличие гемолитической анемии определяли по клиническим и лабораторным признакам. Уровень гемоглобина, общего и непрямого билирубина, количество эритроцитов, ретикулоцитов исследовали общепринятыми методиками.

Результаты ПАГТ проанализированы у 104 больных ХЛЛ, возраст которых составил от 53 до 85 лет (медиана 65 лет).

Результаты.

Положительный ПАГТ выявлен у 15,4% пациентов, страдающих ХЛЛ (16 из 104). Распределение больных в зависимости от интенсивности реакции представлено в таблице.

Таблица 1. Положительный прямой антиглобулиновый тест у больных хроническим лимфолейкозом

Сила реакции в «+»	Количество пациентов	
	n	%
+	3	18,8
++	6	37,5
+++	5	31,2
++++	2	12,5

Положительный ПАГТ был обусловлен фиксацией IgG 2,4 — у 37,5% обследованных, IgG1 — у 18,8%, IgG1 в сочетании с компонентом комплемента C3d — у 18,8%, IgG1+IgG3+IgA+C3d — у 12,5%, только C3d — у 12,5%.

Среди 16 человек с положительным ПАГТ явления гемолиза наблюдались у 9 (56,3%). У пациентов с положительным ПАГТ за счет IgG 2,4 наличия гемолиза не установлено. Выявление C3d как самостоятельно, так и в комплексе с IgG1, IgG3, IgA во всех случаях ассоциировалось с признаками гемолиза. Фиксация на эритроцитах только IgG1 обнаружена у 3 больных ХЛЛ, АИГА развилась у 2 из них (66,7%).

Заключение

Расширенное исследование ПАГТ обладает высокой диагностической ценностью при обследовании пациентов с подозрением на иммунный гемолиз. Его результаты должны трактоваться в контексте клинической ситуации, с учетом патогенетических механизмов. В нашей работе проявления гемолитической анемии обнаружены у 56,3% больных ХЛЛ с положительным ПАГТ. Установлено, что выявление на поверхности эритроцитов компонента комплемента C3d, а также сочетания C3d с IgG1, IgG1+IgG3+IgA в 100% случаев ассоциировалось с развитием АИГА. Фиксация только IgG1 приводила к АИГА в 66,7% случаев. Участие IgG 2,4 в развитии гемолиза не доказано.

Список литературы:

1. Ricci F., Tedeschi A., Vismara E. et al. Should a Positive Direct Antiglobulin Test Be Considered a Prognostic Predictor in Chronic Lymphocytic Leukemia? // *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*. 2013. №13(4). P.441-446.
2. Попонина Е.А., Бутина Е.В., Йовдий А.В. и др. Новые технологические возможности прямого антиглобулинового теста // *Клиническая онкогематология*, 2020. №13(4). С. 426–429.
3. Минеева Н.В., Кробинец И.И., Бодрова Н.Н. и др. Применение прямого антиглобулинового теста для выявления аутоантител при анемиях различного генеза // *Онкогематология*, 2017. Т.12, №3. С.57-62.
4. Parker V., Tormey C. The Direct Antiglobulin Test: Indications, Interpretation, and Pitfalls // *Arch Pathol Lab Med*. 2017. Vol.141. P.305-310.
5. Berentsen S. Role of Complement in Autoimmune Hemolytic Anemia // *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2015. № 42. P.303-310.
6. The direct antiglobulin test: A critical step in the evaluation of hemolysis / N. Zantek, S. Koepsell, D. Tharp [et al.] // *Am J Hematol*. 2012. №87. P.707-709.
7. Go R., Winters J., Kay N. How I treat autoimmune hemolytic anemia // *Blood*. 2017. Vol.129, №22. P.2971-2979.

**АССОЦИАЦИЯ PSTAT3-, PAKT1-ПОЗИТИВНЫХ ОПУХОЛЕВЫХ
КЛЕТОК С ЭКСПРЕССИЕЙ C-MYC, P53, BCL2 ПРИ ДИФФУЗНОЙ
В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЕ**

Росин Виталий Анатольевич

*канд.мед.наук, старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии
ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и
переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ,
г. Киров*

E-mail: rosin@niigpk.ru

Ванеева Елена Викторовна

*младший научный сотрудник лаборатории патоморфологии ФГБУН
«Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания
крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров*

E-mail: vaneeva@niigpk.ru

Дьяконов Дмитрий Андреевич

*канд.мед.наук, зав. лабораторией патоморфологии ФГБУН «Кировский научно-
исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального
медико-биологического агентства», РФ, г. Киров*

E-mail: dyakonov@niigpk.ru

Самарина Светлана Валерьевна

*зав. клинико-диагностическим отделением ФГБУН «Кировский научно-
исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального
медико-биологического агентства», РФ, г. Киров*

E-mail: samarina@niigpk.ru

**ASSOCIATION OF PSTAT3-, PAKT1-POSITIVE TUMOR CELLS WITH
EXPRESSION C-MYC, P53, BCL2 IN DIFFUSION LARGE B-CELL
LYMPHOMA**

Vitaly Rosin

*kandidate of medical science, senior researcher of laboratory patomorphology, The
Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology*

and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency, Russia, Kirov

E-mail: rosin@niigpk.ru

Elena Vaneyeva

junior researcher of laboratory patomorphology, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency, Russia, Kirov

E-mail: vaneeva@niigpk.ru

Dmitry Dyakonov

kandidate of medical science, head. of laboratory patomorphology, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency, Russia, Kirov

E-mail: dyakonov@niigpk.ru

Svetlana Samarina

head of clinical and diagnostic department, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agency, Russia, Kirov

E-mail: samarina@niigpk.ru

Аннотация.

Цель исследования - оценить взаимосвязь дифференцированной экспрессии биомаркеров pSTAT3 и pAKT1 с онкобелками c-Мyc, p53, BCL2 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме (ДВККЛ). В работе использованы иммуногистохимический, морфометрический, статистический методы. Надпороговая экспрессия маркеров pSTAT3 и pAKT1 чаще наблюдалась у пациентов с избыточным содержанием транскрипционного фактора c-Мyc и протеина p53 в опухолевых клетках, чем у больных с низкой выраженностью этих онкобелков. Полученные данные расширяют представление о биологических особенностях опухолевых клеток при ДВККЛ.

Abstracts.

The aim of the study was to assess the relationship between the differentiated expression of biomarkers pSTAT3 and pAKT1 with oncoproteins c-Myc, p53, BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). The study used immunohistochemical, mor-

phometric, statistical methods. Overexpression of the pSTAT3 and pAKT1 markers was more often observed in patients with excessive levels of the c-Myc transcription factor and p53 protein in tumor cells than in patients with low severity of these oncoproteins. The data obtained expand the understanding of the biological characteristics of tumor cells in DLBCL.

Ключевые слова: диффузная В-крупноклеточная лимфома; pSTAT3; pAKT1; экспрессия.

Keywords: diffuse large B-cell lymphoma; pSTAT3; pAKT1; expression

Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ) - наиболее распространенный тип неходжкинских лимфом. Заболевание характеризуется различными темпами прогрессирования, неодинаковой выживаемостью больных и чувствительностью к терапии [10, с. 74, 7, с.1]. Известными молекулярно-биологическими факторами, определяющими биологическое поведение опухоли и прогноз заболевания, являются онкобелки c-Myc, p53, BCL2. Они активно участвуют в регуляции клеточного цикла, дифференцировки, апоптоза [2, с.45, 5, с.1264]. Доказано, что гиперэкспрессия отмеченных онкобелков в опухолевых клетках связана с неблагоприятным течением ДВККЛ [8, с. 194].

К числу потенциальных прогностических биомаркеров при данном заболевании относят протеины pSTAT3, pAKT1 [9, с.5]. Они являются основными компонентами сигнальных путей JAK/STAT3 и PI3K/AKT/mTOR и вовлечены в патогенез ДВККЛ [1, с. 504, 6, с.16]. По сведениям зарубежных авторов, экспрессия pSTAT3, pAKT1 маркеров в опухолевых клетках ассоциируется с неблагоприятным прогнозом течения заболевания [3, с. 4526, 4, с.1715]. Работы по изучению взаимосвязи названных молекул сигнальных путей с экспрессией c-Myc, p53, BCL2 при ДВККЛ малочисленны.

Цель работы - изучить взаимосвязь pSTAT3 и pAKT1 с экспрессией онкобелков c-Myc, p53, BCL2 при ДВККЛ.

Материалом для исследования служили биоптаты лимфоузлов и других органов, полученных от 100 пациентов с впервые установленным диагнозом ДВККЛ, находившихся на лечении в клинике ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России

с 2012 по 2018 гг. Все больные получали стандартную иммунохимиотерапию первой линии по схеме R-CHOP. Определение относительного количества экспрессирующих pSTAT3, pAKT1 опухолевых клеток проводили с помощью иммуногистохимического и морфометрического методов. Оптимальное пороговое значение экспрессии pSTAT3 и pAKT1 вычисляли с применением ROC-анализа: для pSTAT3 оно составило 68% позитивных опухолевых клеток, для pAKT1 - 70%. Согласно установленным порогам, всех обследованных разделили на группы с высокой [$\geq 68\%$ (+) для pSTAT3; $\geq 70\%$ (+) для pAKT1] и низкой [$< 68\%$ (-) для pSTAT3; $< 70\%$ (-) для pAKT1] экспрессией маркеров. Для белков c-Myc, BCL2 и p53 использовали пороговые значения экспрессии, рекомендованные ВОЗ и применяемые в международных исследованиях (40, 50 и 30% позитивных опухолевых клеток, соответственно). Сравнение показателей проводилось с помощью критерия хи-квадрат (χ^2) Пирсона.

При изучении экспрессии pSTAT3 и pAKT1 на опухолевых клетках в группах больных ДВККЛ с различной выраженностью белков c-Myc, BCL2 и p53 установлены статистически значимые закономерности (таблица 1). Частота встречаемости гиперэкспрессии pSTAT3 была в 1,7 раза выше у пациентов с содержанием транскрипционного фактора c-Myc $\geq 40\%$ по сравнению с лицами с низким уровнем экспрессии онкобелка: 77,3% и 46,2% соответственно; $p=0,015$. Также надпороговый уровень выраженности pSTAT3 чаще встречался у обследованных с p53-позитивным статусом опухолевых клеток, чем у больных с низкой экспрессией онкобелка: 65,4% и 39,6% соответственно; $p=0,010$.

При изучении pAKT1 установлено статистически значимое преобладание его гиперэкспрессии в группах пациентов с c-Myc $\geq 40\%$ и p53 $\geq 30\%$ по сравнению с больными, имевшими низкую степень выраженности этих онкобелков: 68,2% против 35,9% ($p=0,014$) и 55,8% против 29,2% ($p=0,008$) соответственно.

Таблица 1. Взаимосвязь pSTAT3, pAKT1 с экспрессией c-Мус, p53 и BCL2

Экспрессия c-Мус, p53, BCL2 Высокая n=53, абс.(%)		Экспрессия pSTAT3		p Высокая n=43, абс.(%)	Экспрессия pAKT1		p
		Низкая n=47, абс.(%)			Низкая n=57, абс.(%)		
c-Мус	≥40%	17 (77,3)	5 (22,7)	0,015*	15 (68,2)	7 (31,8)	0,014*
	<40%	36 (46,2)	42 (53,8)		28 (35,9)	50 (64,1)	
p53	≥30%	34 (65,4)	18 (34,6)	0,010*	29 (55,8)	23 (44,2)	0,008*
	<30%	19 (39,6)	29 (60,4)		14 (29,2)	34 (70,8)	
BCL2	≥50%	32 (52,5)	29 (47,5)	0,892	25 (40,9)	36 (59,1)	0,610
	<50%	21 (53,8)	18 (46,2)		18 (46,2)	21 (53,8)	

*- различия показателей статистически значимы (p<0,05)

Таким образом, надпороговая экспрессия биомаркеров pSTAT3 и pAKT1 связана с избыточным содержанием транскрипционного фактора c-Мус и протеина p53 в опухолевых клетках. Взаимосвязи pSTAT3, pAKT1 с экспрессией BCL2 не выявлено.

Список литературы:

1. Ванеева Е.В. Ассоциация экспрессии pSTAT3, pAKT1 с выживаемостью больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой/ Е.В. Ванеева, В.А. Росин, Д.А. Дьяконов, С.В. Самарина// Казанский медицинский журнал, 2020. Т.101, №4. С.501-506.
2. Экспрессия белков MYC и BCL2 у больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой / А.Е. Мисюрина, С.К. Кравченко, Т.Н. Обухова и др. // Клин. онкогематол., 2015. №8, Т.1. С.44-53.
3. Activation of the STAT3 Signaling Pathway Is Associated. With Poor Survival in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Treated With R-CHOP / X. Huang, B. Meng, J. Iqbal et al. // J. Clin. Oncology, 2013. Vol.31, №36. P.4520-4528.
4. AKT Hyperactivation and the Potential of AKT-Targeted Therapy in Diffuse Large B-Cell Lymphoma / J. P. Wang, Z. Y. Xu-Monette, J. K. Jabbaret et al. // Am. J. Pathol., 2017. Vol.187, №81. P.1700-1716.
5. Diffuse large B-cell lymphoma: using pathologic and molecular biomarkers to define subgroups for novel therapy / A. Carbone, A. Glohini, Y. L. Kwong at al // Ann. Hematol., 2014. V. 93. P.1263-1277.
6. Dysregulation of Cell Survival in Diffuse Large B Cell Lymphoma: Mechanisms and Therapeutic Targets / Y. Miao, L. J. Medeiros, Z. Y. Xu-Monette et al. // Front. Oncology., 2019. Vol. 9. P.1-17.
7. Diffuse Large B-Cell Lymphoma / P. Ana Maria, I. Rotaru, V. Surlin et al. // B-Cells in Normal and Pathological Conditions, 2019. chapt. 1. P.1-13.
8. Gorczyca, W. Atlas of Differential Diagnosis in Neoplastic Hematopathology / W. Gorczyca, F. Emmons // Genzyme Genetics. New York, NY USA, 2004. P.183-195.
9. High nuclear expressions of STAT3 is associated with unfavorable prognosis in diffuse large B-cell lymphoma / Z. L. Wu, Y. Q. Song, Y. F. Shi, J. Zhu // Journal of Hematology & Oncology, 2016. Vol.4, №31. P.1-6.
10. Li, Sh. Diffuse large B-cell lymphoma / Sh. Li, K.H. Young, J. Medeiros // Pathology, 2018. Vol.50, №1. P.74-87.

**ВЗАИМОСВЯЗЬ АБЕРРАЦИЙ В ЛОКУСЕ 17P13 ГЕНА TP53 С
ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ БЕЛКА P53 ПРИ
ДИФФУЗНОЙ В-КЛЕТОЧНОЙ КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЕ**

Сарпова Мария Вадимовна

научный сотрудник лаборатории патоморфологии ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: sarpova@niigpk.ru

Ванеева Елена Викторовна

младший научный сотрудник лаборатории патоморфологии ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: vaneeva@niigpk.ru

Дьяконов Дмитрий Андреевич

к.м.н, заведующий лабораторией патоморфологии ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: dyakonov@niigpk.ru

Росин Виталий Анатольевич

к.м.н, старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», РФ, г. Киров

E-mail: rosin@niigpk.ru

**RELATIONSHIP BETWEEN ABERRATIONS IN THE 17P13 LOCUS
OF THE TP53 GENE AND IMMUNOHISTOCHEMICAL PROTEIN P53
EXPRESSION OF DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA**

Mariia Sarpova

researcher of laboratory pathomorphology, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: sarpova@niigpk.ru

Elena Vaneeva

junior researcher of laboratory pathomorphology, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: vaneeva@niigpk.ru

Dmitry Diakonov

candidate of medical sciences, head of the laboratory of pathomorphology The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: dyakonov@niigpk.ru

Vitaly Rosin

candidate of medical sciences, senior researcher of laboratory pathomorphology, The Federal State-Financed Scientific Institution Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion under the Federal Medical Biological Agence, Russia, Kirov

E-mail: rosin@niigpk.ru

Аннотация.

Исследованы aberrации в локусе 17p13 гена *TP53* и иммуногистохимическая (ИГХ) экспрессия белка p53 в опухолевых клетках у 75 пациентов с впервые выявленной диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ). Обнаружено, что частота встречаемости делеции 17p13 значительно выше у пациентов с гиперэкспрессией p53 ($\geq 43\%$), чем у больных с более низкой долей экспрессирующих опухолевых клеток. Между наличием делеции 17p13/*TP53* и высокой экспрессией белка p53 установлена прямая корреляционная зависимость средней силы.

Abstract.

Genetic aberrations at the locus 17p13 of gene *TP53* were studied and also immunohistochemical (IHC) protein p53 expression in tumor cells was studied in 75 patients with newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). It was found that the frequency of 17p13 deletion was significantly higher in patients with overexpression of the p53 ($\geq 43\%$) than in patients with a lower proportion of expressing tumor cells. A direct correlation of average strength was found between the presence of a 17p13 / *TP53* deletion and the high expression of the p53 protein.

Ключевые слова: диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома, экспрессия p53, делеция 17p13.

Keywords: diffuse large B-cell lymphoma, p53 expression, 17p13 deletion.

Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ) считается одним из наиболее распространенных, агрессивных, клинически и биологически гетерогенных В-клеточных новообразований. Нарушения клеточных процессов дифференцировки, созревания и пролиферации В-лимфоидных элементов являются основными звеньями в патогенезе заболевания [4, с. 961]. Ключевым опухолевым супрессором, определяющим остановку клеточного цикла, репарацию ДНК и апоптоз, значится белок p53, кодируемый геном TP53 [5, с. 309]. К нарушению структуры и функций этого транскрипционного фактора при ДВККЛ приводят различные механизмы, в том числе мутации в экзонах TP53, делеции хромосомного локуса 17p13, в котором локализован указанный ген, аномальное метилирование промотора p53 и др. [2, с. 1094; 8, с. 3988]. Инактивация некоторых проапоптотических генов или гиперактивация антиапоптотических механизмов также могут влиять на функции указанного онкосупрессора [3, с. 363]. Важными факторами, влияющими на прогноз ДВККЛ, являются мутации TP53 и ИГХ экспрессия в опухолевых клетках белка p53 [1, с. 7; 6, с. 198; 7, с. 597; 8, с. 3989]. Однако работы по изучению их взаимосвязи немногочисленны и противоречивы, что указывает на актуальность исследования.

Целью работы явилась оценка взаимосвязи aberrаций в локусе 17p13 гена TP53 с ИГХ экспрессией белка p53.

В исследование включены 75 пациентов (медиана возраста – 58 лет) с впервые установленным диагнозом ДВККЛ, проходивших лечение в клинике ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России. Всем больным проводилась индукционная терапия по схеме R-СНОР. Делецию локуса 17p13/TP53 определяли с помощью анализа флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) на биопсийных образцах опухолевой ткани с использованием ДНК-зондов Kreatech TP53 (17p13) / SE 17 FISH probe. Пробоподготовку и гибридизацию выполняли по протоколам фирмы-производителя Kreatech для локус-специфичных проб. Исследуемые образцы, имевшие в 200 проанализированных клетках соотношение сигналов 17p13/D17Z1 < 0,81, расценивались как позитивные [8, с. 3987]. Подсчет относительного

количества опухолевых элементов, экспрессирующих p53, проводили с помощью ИГХ и морфометрических методов. Статистическую обработку выполняли, используя программное обеспечение STADIA. Анализ порогового уровня p53-позитивных опухолевых клеток осуществляли с помощью ROC-анализа. Оценку ассоциации между наличием делеции 17p13/TP53 и экспрессией белка p53 проводили с помощью точного двустороннего критерия Фишера (F). Корреляционную зависимость определяли методом Крамера (V).

Делеция локуса 17p13/TP53 выявлена у 8 (11%) из 75 больных ДВККЛ. По результатам ROC-анализа (рисунок 1) установлено, что пороговое значение ИГХ экспрессии p53-позитивных клеток соответствовало 43% (чувствительность – 68 %, специфичность – 72 %).

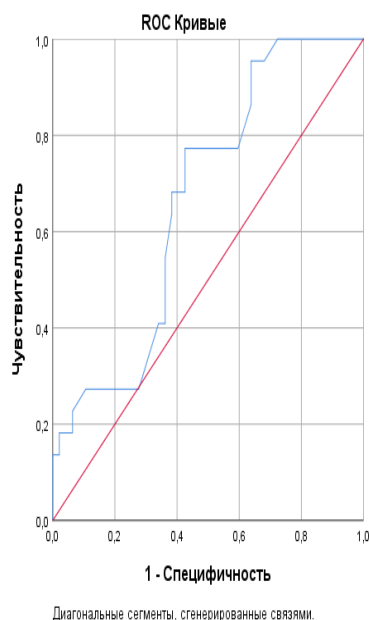


Рисунок 1. ROC-кривая для определения порогового значения ИГХ экспрессии p53

На основании этого значения гиперэкспрессия маркера ($\geq 43\%$) установлена у 33 (44%) обследованных. В 56 % случаев (42 пациента) доля позитивных клеток была ниже порогового уровня. С помощью точного двустороннего критерия Фишера (F) определено, что частота встречаемости делеции 17p13 значительно выше у пациентов с гиперэкспрессией p53, чем у больных с подпороговым значением выраженности указанного белка: 87,5% к 12,5% соответственно

($p=0,018$; $OR=11,04$). Между наличием делеции 17p13/TP53 и экспрессией маркера p53 установлена корреляционная зависимость ($p=0,018$, $V=0,3$).

Таким образом, наличие делеции 17p13/TP53 при ДВККЛ ассоциировано с надпороговой ИГХ экспрессией белка p53 в опухолевых клетках. Между этими лабораторными показателями обнаружена прямая корреляционная зависимость средней силы.

Список литературы:

1. Intlekofer A.M. Integrated DNA/RNA targeted genomic profiling of diffuse large B-cell lymphoma using a clinical assay / Intlekofer A.M., Joffe E., Batlevi C.L. [et al.] // *Blood Cancer Journal*, - 2018. - N 8, P. - 60.
2. Jardin F. Diffuse large B-cell lymphomas with CDKN2A deletion have a distinct gene expression signature and a poor prognosis under R-CHOP treatment: a GELA study / Jardin F., Jais J-P., Molina T-J. [et al.] // *Blood*, - 2010. - Vol. 116, N 7. - P. 1092-1104.
3. Monti S. Integrative Analysis Reveals an Outcome-associated and Targetable Pattern of p53 and Cell Cycle Deregulation in Diffuse Large B-cell Lymphoma / Monti S., Chapuy B., Takeyama K. [et al.] // *Cancer Cell*. - 2012. - N 22(3). - P. 359–372.
4. Skibola C.F., Curry J.D., Nieters A. Genetic susceptibility to lymphoma // *Haematologica*. - 2007. - N 92 (7). - P. 960-969.
5. Vogelstein B., Lane D., Levine A. J. Surfing the p53 network // *NATURE*. - 2000. - Vol. 408. - P. 307–310.
6. Wang X. P53 expression correlates with poorer survival and augments the negative prognostic effect of MYC rearrangement, expression or concurrent MYC/BCL2 expression in diffuse large B-cell lymphoma / Wang X., Medeiros L., Bueso-Ramos C. [et al.] // *Mod Pathol*. - 2017. - N 30. - P. 194–203.
7. Xie Y. P53 expression is a strong marker of inferior survival in de novo diffuse large B-cell lymphoma and may have enhanced negative effect with MYC coexpression: a single institutional clinicopathologic study / Xie Y., Bulbul M.A., Ji L. [et al.] // *Am J Clin Pathol*. - 2014. - N 141. - P. 593–604.
8. Xu-Monette Z. Y., Wu L. et al. Mutational profile and prognostic significance of TP53 in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP: report

from an International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study /
Xu-Monette Z. Y., Wu L., Visco C. [et al.] // Blood. - 2012. - Vol. 120, N 19. - P.
3986-3996.

УДК 616.155

**МЕТИЛИРОВАНИЕ ГЕНОВ МИКРО-РНК MIR-34B/C, MIR-34A И MIR-
203 ПРИ ДИФФУЗНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЕ**

Чуркина Мария Игоревна

*аспирант кафедры «Терапия, гематология и трансфузиология»
ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет
Минздрава России, РФ, г. Новосибирск
E-mail: nats.sagan@yandex.ru*

Поспелова Татьяна Ивановна

*д. мед. н., проф., заведующая кафедры «Терапия, гематология и
трансфузиология» ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский
университет Минздрава России, РФ, г. Новосибирск
E-mail: postatgem@mail.ru*

Воропаева Елена Николаевна

*д. мед. н., с.н.с. лаборатории молекулярно-генетических
исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ –
филиал ИЦиГ СО РАН, РФ, г. Новосибирск
E-mail: vena.81@mail.ru*

**METHYLATION OF THE MIR-34B/C, MIR-34A AND MIR-203 GENES IN
DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA**

Maria Churkina

*Postgraduate student of the Department of “ Therapy, Hematology and
Transfusiology» Novosibirsk State Medical University of the Ministry of Health of the
Russian Federation, Russia, Novosibirsk
E-mail: nats.sagan@yandex.ru*

Tatyana Pospelova

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department “Therapy, Hematology and Transfusiology” Novosibirsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Russia, Novosibirsk

E-mail: postatgem@mail.ru

Elena Voropaeva

Doctor of Medicine, Senior Researcher, Laboratory of Molecular and Genetic Research of Therapeutic Diseases of the NIITPM-Branch of the ICiG SB RAS,

Russia, Novosibirsk

E-mail: vena.81@mail.ru

Аннотация.

Цель: выявить частоту метилирования генов микро-РНК miR-34b/c, miR-34a, miR-203 в опухолевой ткани диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме (ДВККЛ). Метод: Группу исследования составили 140 пациентов. Определение статуса метилирования гена проводили методом метил-специфичной ПЦР. Результат: Частота метилирования данных генов при ДВККЛ составила 70%, 28% и 73% соответственно, при этом в здоровой ткани подобные изменения не встречались. Вывод: Метилирование генов изученных микро-РНК при ДВККЛ носит опухоль-специфический характер и встречается сочетанно.

Abstract.

Background: the purpose of the study is to identify the frequency of methylation of *MIR-34B/C*, *MIR-34A*, and *MIR-203* genes in the tumor tissue of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). Method: The study group consisted of 140 patients. The methylation status of the gene was determined by the method of methyl-specific PCR. Result: The frequency of methylation of these genes in DLBCL was 70%, 28% and 73%, respectively, while no such changes were found in healthy tissue. Conclusion: Methylation of microRNA genes in DLBCL is tumor-specific and occurs in combination.

Ключевые слова: Диффузная В-крупноклеточная лимфома; метилирование; гены микро-РНК.

Keywords: Diffuse large B-cell lymphoma; methylation; microRNA genes.

Микро-РНК представляют собой класс некодирующих РНК длиной 21-25 нуклеотидов, которые влияют на экспрессию генов в основном путем подавления трансляции. «Было доказано, что нарушение регуляции микро-РНК связано с инициацией и прогрессированием злокачественных новообразований» [1, с. 4].

При ДВККЛ было зарегистрировано снижение экспрессии таких онкосупрессорных микро-РНК, как miR-203 [2, с. 2760], miR-34a и miR-34b/c [3, с. 193]. Описано несколько механизмов снижения уровня микро-РНК, одним из которых является aberrантное метилирование промоторов кодирующих их генов.

Цель исследования. Оценить частоту метилирования генов микро-РНК miR-203, miR-34a и miR-34b/c в опухолевой ткани ДВККЛ.

Методы. Группу исследования составили 140 пациентов. Геномная ДНК была выделена методом фенольно-хлороформной экстракции с применением гуанидина из парафинизированных блоков биоптатов опухоли пациентов с ДВККЛ. Бисульфитная конверсия ДНК осуществлялась с применением наборов EZ DNA Methylation-Gold Kit (Zymo Research, США) по протоколу производителя. Определение статуса метилирования гена проводили методом метил-специфичной ПЦР с использованием пар праймеров к метилированной и неметилированной последовательности промотора гена. В качестве отрицательного и положительного контроля применялся набор контрольных ДНК Human Methylated and Unmethylated DNA Control Kit (Zymo Research, США). Для оценки специфичности метилирования использовалась ДНК здоровых доноров.

Результаты

Частота метилирования генов микро-РНК miR-34b/c, miR-34a и miR-203 в опухолевой ткани ДВККЛ составила 70%, 28% и 73% соответственно, при этом в здоровой ткани данные гены в метилированном состоянии не встречались.

Произведен анализ сочетанного метилирования генов *MIR-34B/C*, *MIR-34A* и *MIR-203*. Обнаружена тесная связь между метилированием пар генов *MIR-34B/C* и *MIR-34A*, а также *MIR-34B/C* и *MIR-203* (Таблица 1).

Таблица 1. Анализ частоты сочетанного метилирования генов микро-РНК при ДВККЛ

Метилирование пар генов	Log2 Odds Ratio	p-Value	q-Value	Тенденция
MIR-34B/C и MIR-34A	>3	<0.001	<0.001	Сочетание
MIR-34B/C и MIR-203	1.265	0.013	0.020	Сочетание
MIR-34A и MIR-203	0.768	0.185	0.185	Сочетание

Выводы

Аберрантное метилирование промоторов изученных генов может служить значимым механизмом снижения экспрессии микро-РНК miR-34b/c, miR-34a и miR-203 в опухолевой ткани ДВККЛ. Метилирование генов MIR-34B/C и MIR-34A, а также MIR-34B/C и MIR-203 при лимфоме возникает сочетано и носит опухоль-специфичный характер.

Список литературы:

1. Acunzo M., Romano G. MicroRNA and cancer - a brief overview //Adv Biol Regul., 2015 N58. P. 1 - 9.
2. Chim C.S., Wong K.Y., Epigenetic inactivation of the hsa-miR-203 in haematological malignancies //J Cell Mol Med., 2011 N12. P. 2760-2767.
3. Hermeking H., The miR-34 family in cancer and apoptosis //Cell Death Differ., 2010 N;17. P. 193-199.

Для заметок

Для заметок

Для заметок

Для заметок

Для заметок

Для заметок

Для заметок

Для заметок

Для заметок

Для заметок

Для заметок

