

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Российский научно-исследовательский институт
гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства»**

ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ

THE BULLETIN OF HEMATOLOGY

Том XIII № 1 2017

Ежеквартальный научно-практический журнал
Основан в сентябре 2004 года

Главный редактор

Доктор медицинских наук
профессор
С. С. Бессмельцев

Санкт-Петербург
2017

Редакционная коллегия:

С. С. Бессмельцев (главный редактор)
А. Н. Богданов; Л. Н. Бубнова; Т. В. Глазанова (ответственный секретарь);
С. А. Гусева; А. Ю. Зарицкий; Н. М. Калинина; Л. П. Папаян; В. Г. Радченко;
В. И. Ругаль; О. А. Рукавицын; В. Н. Чеботкевич, С. В. Грицаев.

Редакционный совет:

Б. В. Афанасьев (Санкт-Петербург); *В. В. Базарный* (Екатеринбург);
М. Л. Гершанович (Санкт-Петербург); *К. Г. Дуткевич* (Санкт-Петербург); *Г. А. Зайцева* (Киров);
Ю. М. Захаров (Челябинск); *Л. Г. Ковалева* (Москва); *А. В. Литвинов* (Смоленск);
В. И. Мазуров (Санкт-Петербург); *И. В. Поддубная* (Москва); *Т. Н. Поспелова* (Новосибирск);
А. Г. Румянцев (Москва); *В. Г. Савченко* (Москва); *Н. Н. Третьяк* (Киев); *Н. П. Шабалов* (Санкт-Петербург).

Зав. редакцией — *Е. Р. Шилова*, тел.: (812) 717-58-57

Ответственный секретарь — *Т. В. Глазанова*, тел.: (812) 717-08-90, факс: (812) 717-20-87

Адрес редакции:

191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д. 16

E-mail: bloodscience@mail.ru

Сайт: www.bloodscience.ru

За содержание рекламных объявлений редакция ответственности не несет.
При перепечатке материалов ссылка на журнал «Вестник гематологии» обязательна.
Мнение членов редакционной коллегии не всегда совпадает с мнением авторов статей.

Обложка и художественное оформление *О. С. Дмитриева*
Компьютерная верстка *О. С. Дмитриева*

Журнал зарегистрирован Северо-Западным окружным межрегиональным территориальным управлением по Санкт-Петербургу и Ленинградской области Министерства Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средствам массовых коммуникаций.

18+

Свидетельство о регистрации ПИ № 2-7271 от 28 мая 2004 г.

Подписано в печать 10.11.2017 г. Формат бумаги 60 × 90 1/8.

Бумага офсетная. Печать офсетная. Тираж 500 экз. Заказ 50.

Издательство РосНИИГТ, 193024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д. 16.

Отпечатано в ООО «Агентство «ВиТ-принт»», Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д. 23.

СОДЕРЖАНИЕ

ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ:

Ионова Т. И. СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ В ОНКОГЕМАТОЛОГИИ.....	4
---	---

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ:

Артюхина З. Е., Семенова Н. Ю., Балашова В. А., Бессмельцев С. С., Ругаль В. И. КРОВАТОРНАЯ ТКАНЬ И СТРОМАЛЬНОЕ МИКРООКРУЖЕНИЕ БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ	16
Киселева Е. Е. АЛГОРИТМ ВЫЯВЛЕНИЯ И ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ В КРОВИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПЦР	19
Силина Н. Н., Смирнова О. А., Климова Н. И., Жулев Ю. А., Чечеткин А. В., Папаян Л. П. СОСТОЯНИЕ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПАТОЛОГИИ ГЕМОСТАЗА В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ.....	25
Морозова Т. В., Кацадзе Ю. Л., Кобилянская В. А. ИССЛЕДОВАНИЕ НАРУШЕНИЙ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ ДИФТЕРИЕЙ (РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ)	29

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ:

Панахова Д. З. АНЕМИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	33
---	----

ИСТОРИЯ:

Бессмельцев С. С., Киселева Е. А., Замотина Т. Б., Чечеткин А. В. РАЗВИТИЕ МЕТОДОВ ЭФФЕРЕНТНОЙ ТЕРАПИИ В РОССИЙСКОМ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОМ ИНСТИТУТЕ ГЕМАТОЛОГИИ И ТРАНСФУЗИОЛОГИИ.....	40
ПЛАН НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ В ФГБУ «РОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕМАТОЛОГИИ И ТРАНСФУЗИОЛОГИИ ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА» НА 2017 ГОД.....	45
К сведению авторов	46

CONTENTS

EDITORIAL:

Ionova T. I. MODERN ISSUES OF QUALITY OF LIFE RESEARCH IN HEMATOONCOLOGY	4
--	---

ORIGINAL ARTICLES

Artyukhina Z., Semenova N., Balashova V., Bessmeltsev S., Rugal V. HEMPOETIC TISSUE AND STROMAL MICROENVIRONMENT IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA	16
Kiseleva E. E. ALGORITHM OF DETECTION AND IDENTIFICATION OF BACTERIA IN BLOOD USING PCR	19
Silina N. N., Smirnova O. A., Klimova N. I., Zhulev Yu. A., Chechetkin A. V., Papayan L. P. STATE OF LABORATORY DIAGNOSTIC OF HEMOSTASIS PATHOLOGY IN THE RUSSIAN FEDERATION.....	25
Morozova T. V., Katsadze U. L., Kobilyanskya V. A. DIPHThERIA PATIENS HAEMOSTASIS SYSTEM FAILURE INVESTIGATION (RETROSPECTIVE ANALYSIS).....	29

REVIEW OF LITERATURE:

Panahova D. Z. ANAEMIA OF CHRONIC DISEASES	33
--	----

Ионова Т. И.

Санкт-Петербургский государственный университет, ФГБУ «Санкт-Петербургский многопрофильный центр»

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ В ОНКОГЕМАТОЛОГИИ

Ionova T. I.

MODERN ISSUES OF QUALITY OF LIFE RESEARCH IN HEMATOONCOLOGY

St. Petersburg University, State Federal Hospital "St. Petersburg MultiSpeciality Center"

Резюме

Один из приоритетов современной медицины — помощь, ориентированная на пациента. Подход, ориентированный на больного, предусматривает ведение больных не только с использованием клинических и лабораторных показателей, но и на основании данных о качестве жизни больного. Оценка качества жизни больного — важный компонент клинических исследований и клинической практики в современной онкогематологии. Особенность концепции исследования качества жизни в онкогематологии заключается в составляющей, характеризующей методологию исследования. Имеющаяся в настоящее время методология исследования качества жизни позволяет измерить ключевые аспекты жизнедеятельности больного со злокачественными заболеваниями крови и изучить изменения физического, психологического и социального функционирования пациента, вызванные заболеванием и лечением, на основании его самооценки. Наиболее актуальными сферами применения метода исследования качества жизни в онкогематологии являются следующие: стандартизация методов лечения; оценка эффективности новых методов лечения; оценка эффективности и повышение качества экспертизы новых лекарственных препаратов; разработка прогностических моделей течения и исхода заболевания; разработка и оценка эффективности программ реабилитации; изучение состояния больных в длительной ремиссии заболевания; обеспечение полноценного индивидуального мониторинга состояния больного с оценкой ранних и отдаленных результатов лечения; экономическое обоснование методов лечения с учетом таких показателей, как «цена-качество», «стоимость-эффективность» и других фармакоэкономических критериев.

Ключевые слова: оценки, данные пациентом; качество жизни; симптомы; клинические исследования; клиническая практика.

Abstract

One of the priorities of modern medicine is patient-centered care. The key aspect of patient-centered care is the patient's active and central role in managing their disease, including the self-monitoring of patient-reported outcomes. Quality of life and symptom assessment is an important aspect of clinical studies and routine clinical practice in modern hematooncology. The peculiarities of quality of life research in hematooncology deal with its methodology. Modern methodology of quality of life assessment allows to measure key aspects of well-being of a patient with blood cancer and to study changes of his/her physical, psychological and social functioning due to disease and its treatment. The most important areas of application of quality of life and symptom research in hematooncology are as follows: standartization of treatment regimens; evaluation of treatment efficacy; evaluation of efficacy of new drugs and improvement of their quality; development of prognostic models; development and evaluation of the efficacy of rehabilitation programs; study of quality of life in patients in long-term remission; individual monitoring of patient functioning in clinical practice with evaluation of early and long-term treatment outcomes; economic evaluation of treatment outcomes with such approaches as "cost-utility" and "cost-effectiveness".

Keywords: patient-reported outcomes, quality of life, symptoms, research and clinical practice.

Один из приоритетов современной медицины — помощь, ориентированная на пациента. Подход, ориентированный на больного, предусматривает ведение больных не только с использованием клинических и лабораторных показателей, но и на основании оценок, данных пациентом. Оценки, данные пациентом, — общий термин, объединяющий разные параметры, связанные с состоянием здоровья пациента и побочными эффектами лечения, полученные непосредственно от пациента [1–5]. Согласно определению Комитета по контролю продуктов питания и лекарственных препаратов США (US Food and Drug Administration, FDA), оценки, данные пациентом, — «это измерение состояния больного, проведенное им самим и не опосредованное интерпретацией врача или другого лица» [1]. Оценки, данные пациентом, позволяют получить информацию о лечении с точки зрения больного с помощью стандартизированных инструментов, которые заполняет пациент, а не врач или исследователь. Этот подход целесообразен в тех случаях, когда необходимо получить данные, лучше всего известные больному и отражающие его точку зрения. Как определено FDA, «некоторые эффекты лечения известны только больному, и эта информация может быть потеряна, если она будет отфильтрована мнением врача». К оценкам, данным пациентом, относят качество жизни, симптомы, удовлетворенность пациентом лечением, его приверженность к лечению и другую информацию о состоянии больного и проводимом лечении, полученную непосредственно от больного. Качество жизни и симптомы — чаще всего используемые составляющие среди оценок, данных пациентом. Оценки, данные ближайшим окружением (proxy reports) — врачами, медсестрами, родственниками и другими (необходимы в некоторых случаях, например, при распространенных формах рака, когнитивных нарушениях), рассматривать не как

оценки, данные пациентом, а как их отдельные категории. Оценки, данные пациентом, позволяют получить информацию, которую нельзя получить из других источников.

В онкогематологии исследования качества жизни проводятся более тридцати лет. Необходимость этого научного направления закреплена в ряде документов, которыми руководствуется международное онкологическое сообщество. На совместной конференции Национального института рака США (NCI) и Американского общества клинической онкологии (ASCO) в 1996 г. постулировано, что качество жизни является вторым по значимости критерием оценки результатов противоопухолевой терапии после выживаемости [6]. Согласно рекомендациям Food and Drug Administration (FDA, США, 1985 г.), оценку качества жизни больного следует включать в клинические исследования, связанные с внедрением новых лекарственных препаратов в онкологию/онкогематологии. В 2009 г. FDA подготовлены рекомендации, специально посвященные методам оценки качества жизни и симптомов при определении эффективности лекарственных препаратов в клинических исследованиях [1]. В Европе для координации научных программ в области исследования качества жизни у гематологических больных в 2006 г. в рамках Европейской гематологической ассоциации (ЕНА) создана Научная рабочая группа «Качество жизни и симптомы». В отечественной онкогематологии концепция исследования качества жизни разработана под руководством профессора А. А. Новика на кафедре гематологии и клинической иммунологии Военно-медицинской академии при участии экспертов Межнационального центра исследования качества жизни на основании общей концепции исследования качества жизни в клинической медицине, сформулированной академиком РАМН Ю. Л. Шевченко.

Концептуальные аспекты исследования качества жизни в онкогематологии

В основе концепции исследования качества жизни лежит определение понятия «качество жизни». **Качество жизни** — интегральная характеристика физического, психологического, эмоционального и социального функционирования человека, основанная на его

субъективном восприятии [2, 3]. Это определение логично связано с дефиницией здоровья, данной ВОЗ: «Здоровье — это полное физическое, социальное и психологическое благополучие человека, а не просто отсутствие заболеваний» [WHO, 1947].

Три основные составляющие концепции качества жизни — это многомерность, субъективность и изменяемость во времени.

Многомерность изучаемых параметров. Качество жизни включает информацию об основных сферах жизнедеятельности человека — физической, психической и социальной. Качество жизни можно оценивать на групповом и индивидуальном уровнях.

Субъективность (участие больного в оценке своего состояния). Оценку качества жизни проводит сам больной. В данном случае субъективность не следует понимать в прямом смысле; здесь это означает, что в оценке участвует субъект. Субъективность не означает отсутствие валидности. Оценка качества жизни позволяет получить воспроизводимые независимые данные, которые могут быть проанализированы с тем же уровнем надежности, как и клинические данные, например данные анализа крови.

Изменяемость во времени. Показатели качества жизни изменяются во времени в зависимости от состояния больного, обусловленного рядом эндогенных и экзогенных факторов. Показатели качества жизни могут меняться в процессе лечения, в ходе диспансерного наблюдения; данные изменения могут быть учтены при использовании стандартизированных опросников.

Другая важная составляющая оценок, данных пациентом, — субъективные симптомы, которые испытывает больной. Симптом — это признак заболевания, выявляемый на основании объективного обследования (в зарубежной литературе обозначается как *sign*) или субъективной оценки пациентом (в зарубежной литературе обозначается как *symptom*). Примерами субъективных симптомов являются боль, страх, слабость и т. д. Примерами объективных симптомов являются бледность, желтуха, экзофтальм и т. д. Следует заметить, что в зарубежной медицине под симптомом понимают только те проявления болезни, которые являются предметом субъективных ощущений больного и, соответственно, оцениваются только пациентом. В данном контексте симптом — это субъективный признак заболевания, состояния или эффекта, связанного с лечением, который выявляется только на основании оценки, данной пациентом.

Особенность концепции исследования качества жизни в онкогематологии заключается в составляющей, характеризующей методологию исследования, и касается следующих этапов: разработки протокола исследования, обследования больных, анализа и интерпретации результатов.

Методологические особенности исследования качества жизни в онкогематологии

Четкое соблюдение ключевых этапов исследования качества жизни — разработка протокола исследования, обследование больных, анализ и интерпретация результатов — необходимое условие получения информативных, надежных и достоверных данных.

Разработка протокола — обязательный компонент в программах исследования качества жизни [2, 3, 7]. Протокол создается отдельно для каждого исследования качества жизни. Его содержание определяется целями и задачами исследования. Основными разделами протокола являются: цели и задачи исследования; критерии включения/исключения больных; дизайн исследования с обоснованием выбора опросника (-ов) исследования и временных точек исследования; разработка клинической карты больного.

При определении целей и задач исследования качества жизни у больных тем или иным

злокачественным заболеванием системы крови необходимо учитывать особенности биологии опухоли и способов лечения данного заболевания. Другими важными составляющими протокола, которые разрабатываются с учетом специфики заболевания и способов его лечения, являются дизайн исследования и клиническая карта больного. Выбор инструментов исследования осуществляется на этапе создания протокола и во многом определяется биологическими особенностями опухоли и программами противоопухолевой терапии.

Целью исследования качества жизни в онкогематологии может быть не только определение эффективности лечения. Одной из важных задач при реализации современных агрессивных программ химиотерапии является определение токсичности противоопухолевого лечения. В этом случае точки

обследования у пациентов с одной и той же нозологией и аналогичной программой противоопухолевой терапии будут иными, нежели при оценке эффективности лечения. Особенность состоит в том, что исследование качества жизни при решении данной задачи проводят в сроки, когда ожидается максимальная выраженность побочных эффектов лечения. В зависимости от вида химиотерапии или лучевой терапии качество жизни может оцениваться во время курса, сразу после его завершения или через определенный период времени.

Отдельной задачей может быть изучение влияния опухоли и паранеопластических синдромов на физическое, психологическое и социальное функционирование больного. Подобная задача предполагает дизайн, отличный от такового при оценке эффективности лечения или изучении токсических эффектов противоопухолевой терапии. В этом случае дизайн исследования называется «поперечным» и оценка качества жизни проводится однократно. Такое исследование предполагает сравнение показателей качества жизни больных с соответствующими показателями популяционной «нормы». Оценка качества жизни проводится до начала противоопухолевой терапии. При разработке дизайна исследования также важно учитывать биологические особенности опухоли. Это необходимо, в первую очередь, для адекватной интерпретации полученных данных. Так, при латентном развитии опухоли и бессимптомном ее течении параметры качества жизни индивидуума могут быть в пределах популяционной «нормы». В данном случае исследователь сталкивается с феноменом дискордантности, когда очевидны биологические признаки наличия неопластического процесса и отсутствуют функциональные нарушения, определяемые на уровне субъективных переживаний пациента. Феномен дискордантности диктует необходимость тщательного сопоставления клинических данных и параметров качества жизни больного. Показатели качества жизни пациента со злокачественным заболеванием крови не должны подвергаться анализу и интерпретации вне связи с биологическими и клиническими характеристиками. Только системный анализ, опирающийся на достаточный ряд объективных признаков и адекватный объем субъективных данных, позволяет получить

максимально точную и полную информацию о биологических характеристиках опухоли, состоянии организма больного и функциональной адаптации индивидуума к болезни и проводимому лечению.

Выбор опросника исследования качества жизни у онкогематологических больных определяется целями и задачами исследования и зависит от биологических особенностей опухоли и вида лечения. Неточность в выборе инструмента может привести к получению ошибочных данных и выводов, не соответствующих цели и задачам исследования. Для оценки качества жизни онкогематологических больных применяют как общие, так и специальные опросники качества жизни. Общие опросники предназначены для оценки качества жизни как здоровых, так и больных независимо от вида заболевания. Специальные опросники разработаны для больных различными заболеваниями.

Среди общих опросников наиболее распространенным в гематологии, в частности в онкогематологии, является RAND SF-36.

Ниже представлены специальные опросники, которые используются у онкогематологических больных:

- Опросник Европейской организации исследования и лечения рака — EORTC QLQ-C30;
- Опросник оценки функций в онкологии — Functional Assessment of Cancer Therapy-General (FACT-G);
- Роттердамский опросник симптомов — Rotterdam Symptom Checklist (RSC);
- Функциональный индекс жизни при раке — Functional Living Index — Cancer (FLIC);
- Оценка связанных с онкологическим заболеванием проблем — Cancer Inventory of Problem Situations (CIPS);
- Система оценки реабилитации при онкологическом заболевании — Rehabilitation Evaluation System (CARES).

Наиболее распространенными являются EORTC QLQ-C30 и FACT-G. Эти опросники широко используют в многоцентровых клинических исследованиях в Европе, США и Канаде. Эти опросники являются модульными, т. е. включают базовый опросник, к которому может быть добавлен модуль: несколько дополнительных специфичных вопросов с учетом того или иного типа опухоли или программы

лечения. Особо отметим следующие модули EORTC QLQ-C30:

- модуль для больных лейкозами EORTC QLQ-Leu
- модуль для больных лимфомами EORTC QLQ-H8 LQ
- модуль для больных множественной миеломой EORTC QLQ-Mye.

При исследовании качества жизни у больных при проведении трансплантации костного мозга (ТКМ)/ трансплантации стволовых кровяных клеток (ТСКК) основным инструментом является FACT-BMT [3, 4]. Этот опросник является модулем FACT-G. Среди специальных опросников, применяющихся в онкогематологии и разработанных для конкретного заболевания, отметим инструмент для оценки качества жизни у больных лимфомой кожи Skindex-29 [8].

В последние годы в онкогематологии все большее внимание уделяется оценке симптомов. Симптомы могут быть связаны как с самим заболеванием, так и с проводимым лечением. К инструментам оценки субъективных симптомов относят [9]:

- единичные шкалы: визуально-аналоговые, цифровые оценочные и вербально-аналоговые, или шкалы вербальных оценок;
- опросники для оценки отдельного симптома (боли, слабости и других)
- опросники для оценки спектра симптомов.

При ряде злокачественных заболеваний крови пациенты испытывают болевой синдром. Чаще других для оценки боли у таких пациентов используют следующие опросники:

- Краткий опросник оценки боли (Brief Pain Inventory, BPI);
- Опросник боли МакГилла (McGill Pain Questionnaire);
- Карта оценки боли (Memorial Pain Assessment Card);
- Висконсинский краткий опросник оценки боли (Wisconsin Brief Pain Inventory).

В отечественной онкогематологии наиболее распространенным инструментом для оценки боли, помимо единичных шкал, является краткий опросник оценки боли — Brief Pain Inventory (BPI). Он рекомендован для применения ВОЗ и успешно используется

в США, Европе и Азии для оценки выраженности боли и ее влияния на качество жизни онкологических больных.

Многие онкогематологические больные имеют слабость. Существует ряд опросников для оценки слабости:

- Краткий опросник оценки слабости (Brief Fatigue Inventory, BFI);
- Инструмент оценки слабости Пирсона-Баэрса (Pearson-Byars Fatigue Feeling Checklist);
- Инструмент оценки слабости (Fatigue Assessment Instrument);
- Инструмент оценки слабости (Fatigue Symptom Inventory);
- Шкала слабости при раке (Cancer Fatigue Scale).

Наиболее распространенный инструмент для оценки слабости — краткий опросник оценки слабости — Brief Fatigue Inventory (BFI). Он создан на основе краткого опросника оценки боли BPI и предназначен для оценки выраженности слабости и степени ее влияния на основные стороны жизнедеятельности больного. Имеется русская версия опросника.

В связи с тем, что большинство пациентов, страдающих онкогематологическими заболеваниями, испытывают несколько симптомов одновременно, опросники, которые позволяют измерить выраженность спектра симптомов и степень их влияния на функционирование больного, являются ключевым элементом системы адекватной оценки симптомов. Они представляют собой инструменты для выявления симптомов, измерения их интенсивности и оценки эффективности их лечения.

Для оценки спектра симптомов существуют следующие опросники:

- Опросник оценки основных симптомов (M. D. Anderson Symptom Inventory, MDASI);
- Роттердамский инструмент оценки симптомов (The Rotterdam Symptom Checklist);
- Эдмонтонская система оценки симптомов (The Edmonton Symptom Assessment System);
- Шкала оценки симптомов (Memorial Symptom Assessment Scale).

Опросник, позволяющий провести полноформатный скрининг симптомов, которые может испытывать больной с тем или иным

заболеванием, дает возможность получить исчерпывающую информацию о симптомах, которые имеет данный пациент, и определить профиль симптомов. Такой подход лег в основу серии опросников Comprehensive Symptom Profile (CSP), разработанной совместно российскими и американскими экспертами, для полноформатной оценки симптомов [3]. Опросники разработаны в рамках совместного российско-американского проекта Межнациональным центром исследования качества жизни (Россия) и Центром изучения качества жизни и здоровья Нью-Джерси (New Jersey Center for Quality of Life and Health Outcome Research, USA). В серию входят опросники, представляющие собой подробный перечень симптомов, характерных для определенного заболевания (disease-specific questionnaire) или вида лечения (treatment-specific questionnaire). Больному предлагают оценить выраженность каждого из указанных симптомов в баллах с помощью цифровой оценочной шкалы (от 0 до 10). Результатом оценки является цифровое значение выраженности каждого симптома, а также суммарные индексы, характеризующие кластеры симптомов.

Правильный выбор опросника — основа исследования качества жизни. Выбор опросника представляет собой сложную аналитическую задачу, которая должна быть решена в строгом соответствии с целью и задачами исследования. Неточность в выборе инструмента может привести к получению ошибочных данных и выводов, не соответствующих цели и задачам исследования.

В зависимости от целей и задач исследования рекомендуется использование следующих инструментов исследования в онкогематологии:

- При оценке влияния заболевания на различные составляющие качества жизни и сравнении показателей качества жизни онкогематологических больных с популяционной «нормой» качества жизни **рекомендуется** использовать общий опросник качества жизни. В ряде случаев полезно дополнить общий опросник инструментом оценки симптомов.
- При оценке эффективности программ лечения онкогематологических больных с использованием метода оценки качества жизни **рекомендуется** использовать комбинацию общего и специаль-

ного опросников качества жизни. В ряде случаев целесообразно также использование опросника оценки симптомов.

- При оценке эффективности лекарственного препарата, используемого для лечения онкогематологических больных, **рекомендуется** использовать комбинацию общего и специального опросников качества жизни. В ряде случаев целесообразно также применить опросники оценки боли, слабости или специальный опросник оценки симптомов.
- При изучении качества жизни онкогематологических больных в длительной ремиссии и при оценке отдаленных эффектов лечения **рекомендуется** использовать общий опросник качества жизни в сочетании с инструментом оценки симптомов.
- При оценке ответа на лечение, связанного с качеством жизни, в онкогематологии **рекомендуется** использовать общий опросник качества жизни.

В качестве дополнительных инструментов при исследовании качества жизни онкогематологических больных используют опросники, специфичные для определенных состояний. Эти опросники применяют в тех случаях, когда необходимо провести глубокий анализ эмоционального состояния больных, оценить выраженность депрессии или тревожности, адекватность социальной помощи и т. д.

Еще один важный компонент протокола исследования качества жизни — клиническая карта больного. Клиническая карта больного создается отдельно для каждого протокола и заполняется врачом-исследователем. Структура карты и количество позиций, входящих в ее состав, определяются на основании целей и задач исследования. Специфика содержания и структуры карты больного в значительной степени определяется биологическими характеристиками опухоли и программой лечения. В ряде случаев в рамках одного протокола для разных точек исследования разрабатывается несколько вариантов карт, отличающихся по объему регистрируемой клинической информации. При исследовании, дизайн которого предполагает оценку качества жизни до лечения, в его процессе и после окончания, создаются следующие клинические карты — карта больного до лечения, карта динамического

наблюдения, карта больного после окончания лечения.

Важны временные рамки обследования больного. В структуре наиболее распространенного в онкогематологии лонгитюдного исследования качества жизни большую роль играют так называемые «точки» исследования. Их количество и интервалы между ними определяются в соответствии с целями и задачами исследования, а также с учетом особенностей течения заболевания и методов его лечения. В том случае, когда целью исследования является определение эффективности противоопухолевой терапии, дизайн исследования является «продольным» (проспективным) и включает несколько точек

исследования. Первая обязательная точка исследования — до начала лечения. Количество и интервалы между последующими точками исследования (в процессе лечения и после его окончания) определяются, исходя из предполагаемых сроков клинического ответа на лечение. В контексте данной задачи исследование качества жизни должно проводиться перед очередным курсом противоопухолевого лечения. Следует акцентировать внимание на том, что точки исследования, их количество и интервалы между ними, в значительной степени зависят от вида проводимого лечения. Особенности дизайна исследования будут определяться вариантом противоопухолевой терапии.

Основные направления исследования качества жизни в онкогематологии

Сферы применения метода оценки качества жизни в онкогематологии, как и в других разделах клинической медицины, достаточно обширны. К наиболее важным относятся следующие:

- стандартизация методов лечения;
- оценка эффективности новых методов лечения;
- оценка эффективности и повышение качества экспертизы новых лекарственных препаратов;
- разработка прогностических моделей течения и исхода заболевания;
- разработка и оценка эффективности программ реабилитации;
- изучение состояния больных в длительной ремиссии заболевания;
- обеспечение полноценного индивидуального мониторинга состояния больного с оценкой ранних и отдаленных результатов лечения;
- экономическое обоснование методов лечения с учетом таких показателей, как «цена–качество», «стоимость–эффективность» и других фармакоэкономических критериев.

Исследование качества жизни и симптомов — одно из приоритетных научных направлений современной гематологии. Это положение постулировано в опубликованной в 2013 году передовой статье (от редколлегии) международного гематологического журнала «Haematologica» [10]. К настоящему времени имеется большой международный

и отечественный опыт исследований качества жизни у онкогематологических больных. К наиболее актуальным направлениям исследований в онкогематологии следует отнести следующие [11–24]:

- качество жизни как критерий эффективности лечения;
- качество жизни как критерий эффективности лекарственного препарата;
- качество жизни как индикатор влияния заболевания на физическое, психологическое и социальное функционирование больного;
- качество жизни как прогностический фактор течения и исходов заболевания;
- качество жизни в клинико-гематологической ремиссии;
- качество жизни как показатель эффективности реабилитационных программ;
- качество жизни как критерий при определении ранних и отдаленных эффектов; трансплантации костного мозга/ периферических клеток крови;
- качество жизни как критерий эффективности поддерживающей терапии;
- качество жизни как компонент фармакоэкономических расчетов.

Отметим, что оценка качества жизни больного с заболеваниями крови важна как в клинических исследованиях на групповом уровне, так и в клинической практике при индивидуальном мониторинге качества жизни больного. В клинической практике,

как и в клинических исследованиях, необходима точная и адекватная оценка состояния больного, его реакции на лечение [25, 26]. Изучение качества жизни больного до начала и в ходе лечения позволяет получить исключительно ценную многомерную информацию об индивидуальной реакции человека на болезнь и проводимую терапию. Оценка качества жизни — надежный и простой способ оценки влияния болезни на состояние пациента, включая его физический, эмоциональный (психологический) статус, взаимоотношения с родственниками, медицинским персоналом, окружающими. Указанный подход обеспечивает эффективный контроль за качеством медицинской помощи, максимально отвечающей интересам больного и членов его семьи [27]. Таким образом, оценка индивидуальных изменений качества жизни целесообразна у различных категорий больных, так как параметры качества жизни могут быть более чувствительными к изменениям состояния больного, чем традиционные клинико-лабораторные и инструментальные показатели.

Среди перспективных направлений исследования качества жизни в онкогематологии — включение оценок, данных пациентом, для определения побочных эффектов терапии [28–30]. В настоящее время для оценки побочных эффектов лечения применяется шкала оценки побочных/нежелательных явлений CTCAE v.4 (v.4.03, 2010), разработанная Национальным институтом рака (США). Данная шкала является универсальным инструментом, используемым врачом для оценки эффективности и безопасности проводимой противоопухолевой терапии. В ней выделяется 800 различных категорий (групп) побочных явлений, около 10 % из которых относятся к субъективным симптомам, которые испытывают пациенты. Согласно шкале CTCAE v.4.03 тяжесть побочных явлений определяется соответственно 5-ти степеням тяжести (0–4 grade). Однако данная шкала является представлением объективной оценки состояния пациента врачом-клиницистом. При этом субъективное восприятие своего состояния самим пациентом и связанным с лечением проблем в подавляющем большинстве случаев не учитывается при принятии решений о дальнейшей тактике терапии. Недавно Национальным институтом рака была предложена система PRO-CTCAE v.1, ориентиро-

ванная на оценку самим пациентом тяжести своего состояния. Она разработана на основе CTCAE v.4.03. В шкале PRO-CTCAE v.1 каждый из симптомов предложено оценивать по степени выраженности и по уровню вызванного им дискомфорта (symptom burden). Градации для оценки степени выраженности — отсутствие симптома; незначительно выраженный; умеренно выраженный; выраженный; значительно выраженный. Градации для оценки уровня дискомфорта, вызванного симптомом — отсутствие дискомфорта; незначительно выраженный; умеренно выраженный; выраженный; значительно выраженный.

В настоящее время данная шкала применяется в клинических исследованиях и проходит апробацию в реальной клинической практике в медицинских центрах США, Германии, Испании, Дании, Швеции, Японии.

Таким образом, PRO-CTCAE v.1 разработана прежде всего для восполнения дефицита представлений о субъективной оценке пациентом своего состояния. Предполагается совместное использование CTCAE v.4.03 и PRO-CTCAE v.1. Такой комплексный подход как с позиций клинициста, так и с позиций пациента позволит проводить наиболее полный анализ токсичности/переносимости и эффективности проводимой противоопухолевой терапии. Результатом применения обеих шкал должна явиться оптимизация проводимых режимов терапии, индивидуализация терапевтической тактики.

В заключение отметим, что одна из важных тем современной онкогематологии — унификация методологии оценки результатов лечения, направленная на сокращение количества суррогатных показателей и позволяющая оперировать ключевыми интегральными параметрами. Не отрицая важность исследования традиционных клинических параметров, следует обратить внимание на оценку ответа на лечение с точки зрения параметров качества жизни больного. В этой связи при оценке результатов лечения больных со злокачественными заболеваниями крови, наряду с клиническими критериями, целесообразно использовать интегральный показатель качества жизни, который позволяет измерить степень нарушения ключевых функций больного и отражает его физическую, психическую и социальную адаптацию. В клинической онкогематологии оценка ка-

чества жизни больного приобретает особое значение, она положена в основу новой парадигмы понимания болезни и больного и определения эффективности методов лечения. Предложенная профессором А. А. Новиком в 2002 году дихотомическая модель оценки результатов лечения предусматривает наряду с оценкой клинического ответа ответ, основанный на параметрах, оцениваемых самим больным (Рис. 1) [2]. Эта модель нашла поддержку в мировом гематологическом сообществе. В руководстве «Оценки, данные пациентом, в гематологии», изданном под эгидой Научной рабочей группы «Качество

жизни и симптомы» Европейской гематологической ассоциации, данная модель представлена как современный подход к оценке результатов лечения гематологических больных [4]. В рамках предлагаемой модели для оценки объективного клинического ответа используют общепринятые в международной практике критерии, основанные на данных клинических, лабораторных и инструментальных методов исследования. Для определения субъективного ответа, основанного на точке зрения больного, применяют оценки, данные пациентом (Рис. 1).



Дихотомическая модель оценки результатов лечения в онкогематологии (А. А. Новик, 2002 г.); см. руководство «Оценки, данные пациентом, в гематологии» (EHA SWG Guidelines «Quality of Life and Symptoms», 2012).

Таким образом, исследование качества жизни — востребованное и актуальное направление современной онкогематологии, имеющее большие перспективы применения в научных исследованиях и клинической практике.

Заключение

В заключение следует выделить следующие положения:

- Метод исследования качества жизни — важный компонент клинических исследований и клинической практики в современной онкогематологии.
- Имеющаяся в настоящее время методология исследования качества жизни открывает уникальные возможности измерения ключевых аспектов жизнедеятельности больного со злокачественными заболеваниями крови и позволяет изучить изменения физического, психологического и социального функционирования пациента, вызванные заболеванием и лечением, на основании его самооценки. Основанная на международных стандартах методология

обеспечивает получение достоверных данных о показателях качества жизни больного как в клинической практике, так и при проведении клинических исследований.

- Накопленный отечественный и международный опыт изучения качества жизни в онкогематологии показывает, что это исключительно перспективный метод, открывающий новые возможности точного описания и измерения многоплановых функциональных нарушений у больных гемобластозами, связанных с заболеванием и его лечением, и позволяющий вернуться на новом витке эволюции к важнейшему принципу клинической практики «лечить не болезнь, а больного».

Литература

1. *US Food and Drug Administration: Guidance for Industry. Patient-reported outcome measures: use in medical product development to support labeling claims.* Available from [webcite](http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM193282.pdf) U.S. FDA, Clinical/Medical; 2009. [http:// www.fda.gov/ downloads/ Drugs/ GuidanceComplianceRegulatoryInformation/ Guidances/ UCM193282.pdf](http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM193282.pdf).
2. *Новик А.А., Ионова Т.И.* Руководство по исследованию качества жизни в медицине. СПб.: Издательский Дом «Нева»; М.: «Олма-Пресс Звездный мир», 2002. 320
3. *Новик А.А., Ионова Т.И.* Руководство по исследованию качества жизни в медицине (3-е изд., перераб. и доп.) / Под ред. академика РАМН Ю. Л. Шевченко. М.: РАЕН, 2012. 528 с.
4. *Guidelines. Patient-reported outcomes in hematology / Editors: A. Novik, S. Salek, T. Ionova.* Genoa: Forum service editore. 2012.
5. *Ионова Т.И., Салек С., Олива Е.* Значение оценок, данных пациентом, в онкогематологии Клиническая онкогематология. 2014. Т. 7 № 4: 573–576.
6. *ASCO. Outcomes of cancer treatment for technology assessment and cancer treatment guidelines.* J Clin Oncology. 1996; 14(3): 671–679.
7. *Ионова Т.И.* Концептуальные и методологические аспекты исследования качества жизни в онкогематологии. Автореферат дис. доктора биол. наук. СПб., 2009. 48 с.
8. *Ионова Т.И., Никитина Т.П., Новик А.А.* Практические рекомендации по оценке качества жизни у онкологических больных // Злокачественные опухоли. — 2015. — № . 4, спецвыпуск. — С. 439–443.
9. *Ионова Т.И., Мельниченко В.Я., Федоренко Д.А., Новик А.А.* Методика оценки симптомов у онкологических и онкогематологических больных. Учебно-методическое пособие / Под редакцией академика РАМН Ю. Л. Шевченко. М., 2012. 44 с.
10. *Salek S., Ionova T., Oliva E.* on behalf of the EHA SWG «Quality of Life and Symptoms». Patients' needs in hematology: whose perspectives? Haematologica. 2013; 98: 828–830; doi: 10.3324.
11. *Moskowitz C.H.* An update on the management of relapsed and refractory Hodgkin's Lymphoma. Seminars in Oncology. 2004; 31:54–59.
12. *Moskowitz C.H.* Outcome of patients with primary refractory HD treated with high dose combined modality therapy and ASCT. British Journal of Haematology. 2004; 124: 645–652.
13. *Ионова Т.И., Рыков И.В., Калядина С.А.* Популяция больных гемобластозами гетерогенна по интегральному показателю качества жизни. Вестн. Межнац. центра исследования качества жизни. 2007; 9–10: 99–108.
14. *Bertero C., Eriksson B. E., Ek A. C.* Explaining different profiles in quality of life experiences in acute and chronic leukemia. Cancer Nurs. 1997; 20(2): 100–104.
15. *Coates A. S., Porzsolt F., Osoba D.* Quality of life in oncology practice: prognostic value of EORTC QLQ–C30 scores in patients with advanced malignancy. Eur. J. Cancer. 1997; 33: 1025–1030.
16. *Dancey J., Zee B., Osoba D.* Quality of life scores: an independent prognostic variable in a general population of cancer patients receiving chemotherapy. Can. Med. Assoc. J. 1996; 10: 225–230.
17. *Gulbrandsen N., Hjermsstad M. J., Wisloff F.* Interpretation of quality of life scores in multiple myeloma by comparison with a reference population and assessment of the clinical importance of score differences. European J. Haematology. 2004; 72(3): 172.
18. *Wisloff F., Hellstrom-Lindberg E. et al.* A validated decision model for treating the anemia of myelodysplastic syndromes with erythropoietin and G-CSF — significant effects on quality of life. Br. J. Haematology. 2003; 120: 1037–1046.

19. *Hwang S.S., Scott C.B., Chang V.T. et al.* Prediction of survival for advanced cancer patients by recursive partitioning analysis: role of Karnofsky performance status, quality of life, and symptom distress. *Cancer Invest.* 2004; 22: 678–687.
20. *Jerkeman M., Kaasa S., Hjerstad M. et al.* Health-related quality of life and its potential prognostic implications in patients with aggressive lymphoma: a Nordic Lymphoma Group Trial. *Med. Oncol.* 2001; 18(1): 85–94.
21. *Novik A.A., Ionova T.I., Povzun A.S. et al.* Quality of life of in patients with different types of leukemia. *Qual. Life Res.* 2000; 9(3): 294.
22. *Novik A., Ionova T., Kishtovich A.* Heterogeneity of new lymphoma patients in terms of quality of life parameters *Blood.* 2003; 22: 302.
23. *Sedman A.D., Porteney R., Yao T.J. et al.* Quality of life in Phase II Trials: a study of methodology and predictive value in patients with advance breast cancer treated with Paclitaxel plus granulocyte colony stimulating factor. *J. Nat. Cancer Inst.* 1995; 87: 1316–1322.
24. *Ионова Т.И.* Актуальные вопросы исследования качества жизни в онкогематологии Сибирский научный медицинский журнал. Бюллетень СО РАМН, ТОМ 33, № 1, 2013
25. *Gorodokin G., Novik A.* Quality of cancer care. *Ann Oncol.* 2005; 16 (6): 991.
26. *Tannock I.F.* Treating the patient, not just the cancer. *N. Engl. J. Med.* 1987; 317: 1534–1535.
27. *S. Salek, E. Oliva, T. Ionova* Patient-Centered Research And Practice In The Era Of Genomics: A Novel Approach *Haematologica* July 2016; 101: 792–793; Doi:10.3324/haematol.2016.142844.
28. *T. Mendoza, S. Mitchell, et al* Validity and Reliability of the US National Cancer Institute’s Patient-Reported Outcomes Version of the Common Terminology Criteria for Adverse Events (PRO-CTCAE) *JAMA Oncol.* 2015;1(8):1051–1059. doi:10.1001/jamaoncol.2015.2639.

Артюхина З. Е., Семенова Н. Ю., Балашова В. А., Бессмельцев С. С., Ругаль В. И.

ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», Санкт-Петербург.

**КРОВЕТВОРНАЯ ТКАНЬ И СТРОМАЛЬНОЕ МИКРООКРУЖЕНИЕ
БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ**

Artyukhina Z., Semenova N., Balashova V., Bessmeltsev S., Rugal V.

State organization "Russian Scientific Research Institute of Hematology and Transfusiology FMBA of Russia", St. Petersburg.

**HEMATOPOETIC TISSUE AND STROMAL MICROENVIRONMENT
IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA**

Резюме. Эндостально-васкулярные структуры стромы костного мозга, формирующие гемопоэтическую нишу, регулируют развитие гемопоэтических стволовых клеток. Анализ морфологических изменений ключевых элементов гемопоэтической ниши (эндостальных стромальных клеток и микрососудов) имеет значение для уточнения патогенеза ряда лимфопролиферативных заболеваний, включая множественную миелому (ММ).

Изучена паренхиматозная и стромальная ткань костного мозга в трепанобиоптатах подвздошной кости 63 больных множественной миеломой с интерстициальной и диффузной инфильтрацией костного мозга до начала лечения. Установлены изменения стромального микроокружения при обоих типах поражения костного мозга. Выявлено увеличение плотности микрососудов, изменение морфофункционального состояния эндостальных стромальных клеток и структуры коллагена кости, что свидетельствует о вовлечении в патологический процесс ниши гемопоэтических стволовых клеток при множественной миеломе.

Ключевые слова: множественная миелома, костный мозг, стромальное микроокружение, гемопоэтическая ниша.

Abstract. Endosteal vascular structures of bone marrow forming hematopoietic niche regulate the development of hematopoietic stem cells. Analysis of morphological changes of the key elements of the hematopoietic niche (endosteal stromal cells and microvessels) is set to clarify the pathogenesis of a number of lymphoproliferative disorders, including multiple myeloma. Parenchymal and stromal bone marrow tissue have been studied in bone marrow trephine biopsy ileum of 63 multiple myeloma patients with interstitial and diffuse bone marrow infiltration prior to treatment. Changes of stromal microenvironment in both types of bone marrow lesions have been found. Research showed an increase in microvessel density, changes in morphofunctional state of endosteal stromal cells and collagen bone structure, indicating the involvement in the pathological process of niches of hematopoietic stem cells in multiple myeloma.

Key words: multiple myeloma, bone marrow, stromal microenvironment, hematopoietic niche.

Введение. Практически все системные заболевания кроветворной и лимфоидной ткани характеризуются в различной степени выраженным нарушением состояния гемопоэтической паренхимы и стромального компонента костного мозга [1–5]. При этом, в группе гемобластозов, у больных множественной

миеломой (ММ) наряду с поражением паренхимы особенно ярко проявляются изменения непаренхиматозного, стромального компонента костного мозга. Это, прежде всего, связано с выраженными изменениями клеточных и межклеточных структур костной ткани — ключевого элемента стромы, формиру-

ющего гемопоэз-индуцирующее микроокружение. Особенно важно отметить, что костная ткань, а именно её остеогенные клетки эндостальной зоны создают нишу стволовых клеток гемолимфопоэза [6–9]. Ниша обеспечивает длительное, на протяжении всей жизни организма, самоподдержание стволовых клеток, регулирует их дифференцировочный и пролиферативный потенциал [10–14]. Гистологическое исследование трепанобиоптатов костного мозга с иммуногистохимическим анализом позволяет более точно оценить объем инфильтрации костного мозга, охарактеризовать состояние гемопоэтической ткани и стромального микроокружения. Кроме того, сведения о взаимоотношениях кроветворной и стромальной ткани костного мозга больных ММ могут быть использованы в целях оценки прогноза заболевания и совершенствования методов лечения.

Целью представленного исследования являлось изучение особенностей опухолевой инфильтрации паренхимы костного мозга больных ММ с одновременной характеристикой перестроек стромальных структур кроветворного микроокружения, включая структуры стромы костного мозга, формирующие нишу гемопоэтических стволовых клеток.

Материал и методы исследования. Материалом исследования послужили цельные фрагменты подвздошной кости 63 больных ММ (59–72 лет) с интерстициальной и диффузной инфильтрацией костного мозга до начала лечения. Трепанаты не менее 2 см фиксировали в 10 % нейтральном забуференном формалине, декальцинировали с использованием декальцинатора на основе ЭДТА, обезжировали изопропиловым спиртом и пропитывали парафином в автоматическом процессоре. Гистологические препараты толщиной 3–5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином. Ретикулиновые волокна выявляли на основе импрегнации серебром. Степень опухолевой инфильтрации оценивали на основании иммуногистохимических исследований с использованием RTU антител к антигенам CD20, CD79 α , CD138 фирмы DAKO.

Результаты и обсуждение. Оценка объема инфильтрации костного мозга плазматическими клетками является одним из важных критериев оценки кроветворной функции в условиях развития ММ. При гистологиче-

ском исследовании трепанобиопсий подвздошной кости больных ММ с первично установленным диагнозом до начала терапии в костном мозге обнаруживалась инфильтрация кроветворной ткани миеломными клетками неоднородной морфологической структуры. Опухолевые клетки в большинстве случаев имели типичную структуру зрелых плазмочитов, в которых не выявлялись ядрышки. Реже миеломные клетки классифицировались как проплазмочиты, плазмобласты. Среди инфильтрирующих паренхиму плазмочитов обнаруживались клетки с Русселевскими тельцами, двуядерные и многоядерные формы. В исследуемой группе было выделено два типа поражения костного мозга: интерстициальный и диффузный. Интерстициальный тип миеломного поражения характеризовался наличием плазматических клеток, расположенных среди элементов нормального гемопоэза, без изменения соотношения с жировой тканью. Число гемопоэтических клеток снижалось в зависимости от интенсивности насыщения костномозговых лакун миеломными клетками. Диффузный тип поражения диагностировался в случаях массивной инфильтрации миеломными клетками интрамедуллярных пространств, которая сопровождалась редукцией жировой ткани с замещением костномозговых пространств плазмочитами и различной степенью угнетения гемопоэза.

Наряду с морфологической идентификацией миеломных клеток проводилось иммуногистохимическое исследование для подтверждения гистогенеза опухоли. Особенно информативны были исследования с определением на клетках инфильтратов CD79 α и CD138. Экспрессия CD138 определялась практически у всех обследованных больных.

Анализ стромальных структур микроокружения свидетельствовал об изменении состояния стромы при всех типах поражения интрамедуллярной паренхимы. Интерстициальная инфильтрация костного мозга плазмочитами сопровождалась увеличением интрамедуллярных ретикулярных клеток, наличием ретикулиновых волокон, разбросанных в паренхиме без формирования склеротической сети, отмечались участки деструкции коллагена трабекул без статистически значимого уменьшения объема костной ткани. В эндотелии микрососудов, включая синусы, явных перестроек не наблюдалось.

Выраженные изменения стромальной ткани костного мозга регистрировались при диффузной инфильтрации. Обнаруживался ретикулиновый склероз, увеличение плотности микрососудов (CD31, CD34), нарастание числа эндостальных клеток с уплощенными ядрами, нарушение структуры коллагена трабекул костной ткани. Объем костных балок был несколько снижен, однако уменьшение остеогенной ткани было статистически недостоверно ($p > 0.05$).

До настоящего времени генез ММ окончательно не установлен, в связи с этим любые новые сведения относительно расшифровки причины развития ММ весьма актуальны как для понимания природы заболевания, так и для целей терапии и прогноза. Важная роль в получении фактов, способствующих раскрытию патогенеза ММ, принадлежит изучению стромального микроокружения костного мозга. Это, прежде всего, связано с тем обстоятельством, что ММ является заболеванием, в основе которого лежит неопластическая трансформация В-лимфоцитоза, а ключевая роль в развитии В-лимфоцитов принадлежит интрамедуллярным стромальным клеткам, которые коммитируют направление их развития, регулируют пролиферацию и дифференцировку. Естественно полагать, что нарушение структуры и функции костномозговых стромальных регуляторов В-лимфоцитоза может вести к нарушению развития лимфоидных клеток-предшественниц, не исключая их малигнизацию. Также известно, что распространенность опухолевого поражения костного мозга и характер инфильтрации кровяной ткани плазмочитами является значимым, так как эти факторы во многом определяют дальнейшее течение заболевания и его лечение.

Представленные нами данные о состоянии стромы костного мозга больных ММ свидетельствуют о реакции стромального микроокружения на появление миеломных клеток в интрамедуллярных пространствах губчатого вещества кости. Ключевыми структурными компонентами, формирующими нишу,

являются эндостальные стромальные клетки губчатого вещества кости, которые совместно с нарабатываемыми ими гуморальными регуляторными факторами и экстрацеллюлярным матриксом при участии микрососудов обеспечивают реализацию генетической программы пролиферации и дифференцировки стволовых клеток, включая лимфоидные предшественники, из которых возникает пул неопластических клеток при ММ. Как следует из наших исследований, отчетливые изменения регистрируются именно в эндостальных зонах, где происходит перестройка соотношения эндостальных клеток, коллагена костных балок и системы микроциркуляции. Это обстоятельство может служить весомым аргументом, указывающим на возможность перестройки функционального потенциала гемопозитической ниши. На сегодняшний день твердо установлено значение дефектов ниши в расстройствах гемолимфоцитоза, вплоть до непосредственного участия стромальных элементов, формирующих нишу, в появлении лейкозного клона [16–18]. Предыдущие собственные исследования стромы костного мозга при ММ не противоречат этому положению [19–20]. На наш взгляд вероятность важной, если не ключевой, роли в патогенезе ММ дефектов стромального микроокружения в целом и особенно элементов, определяющих состояние ниши стволовых клеток, очень высока. Прежде всего, это может быть связано с тем, что дефекты ниши могут приводить к нарушению сигнальных путей запуска генетически детерминированной программы пролиферации и дифференцировки нормальных гемопозитических предшественников, включая клетки-предшественницы В-лимфоцитоза. Дальнейшие исследования стромальной ниши гемопоэтических клеток в динамике течения ММ и в условиях применения современных схем ее терапии позволят получить дополнительные данные о патогенетической роли нишеобразующих структур в расстройствах развития В-лимфоцитов при ММ.

Литература

1. Герасимова Л. П., Дризе Н. И., Лубкова О. Н. и др. Нарушения стромального микроокружения у больных с различными заболеваниями системы крови // Гематология и трансфузиология. — 2008. — Т. 53, № 5. — С. 59–62.
2. Duhrsen U., Hossfeld D. K. Stromal abnormalities in neoplastic bone marrow diseases // *Ann Hematol.* — 1996. — Vol. 73. — P. 53–70.
3. Walkley C. R., Olsen G. H., Dworkin S. et al. A microenvironment-induced myeloproliferative syndrome caused by retinoic acid receptor γ deficiency // *Cell.* — 2007. — Vol. 129. — P. 1097–1110.
4. Manier S., Sacco A., Leleu X. et al. Bone marrow microenvironment in multiple myeloma progression // *J of biomedicine and biotechnology.* — 2012. — Vol. 2012. — Id. 157496.
5. Raaijmakers M. H.G.P., Mukherjee S., Guo S. et al. Bone progenitor dysfunction induces myelodysplasia and secondary leukaemia // *Nature.* — 2010. — Vol. 464. — P. 852–857.
6. Calvi L. M., Adams G. B., Weibrecht K. W. et al. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche // *Nature.* — 2003. — Vol. 425. — P. 841–846.
7. Chan C. K.F., Chen C. C., Luppen C. A. et al. Endochondral ossification is required for haematopoietic stem-cell niche formation // *Nature.* — 2009. — Vol. 457. — P. 490–494.
8. Yin T., Li L. The stem cell niches in bone // *J Clin Invest.* — 2006. — Vol 116, № 5. — P. 1195–1201.
9. Askmyr M., Sims N. A., Martin T. J., Purton L. E. What is the true nature of the osteoblastic hematopoietic stem cell niche? // *Trends in endocrinology & metabolism.* — 2009. — Vol. 20, № 6. — P. 303–309.
10. Zhang J., Niu C., Ye L. et al. Identification of haematopoietic stem cell niche and control of the niche size // *Nature.* — 2003. — Vol. 425. — P. 836–841.
11. Ellis S. L., Grassinger J., Jones A. et al. The relationship between bone, hemopoietic stem cells, and vasculature // *Blood.* — 2011. — Vol. 118, № 6. — P. 1516–1524.
12. Oh I. H., Kwon K. — R. Concise review: multiple niches for hematopoietic stem cell regulations // *Stem cells.* — 2010. — Vol. 28. — P. 1243–1249.
13. Lilly A. J., Johnson W. E., Bunce C. M. The haematopoietic stem cell niche: new insights into the mechanisms regulating haematopoietic stem cell behaviour // *Stem cells international.* — 2011. — Vol. 2011. — Id. 274564.
14. Huang M. — M., Zhu J. The regulation of normal and hematopoietic stem cells by niches // *Cancer Microenviron.* — 2012. — Vol. 5, № 3. — P. 295–305.
15. Ругаль В. И., Бессмельцев С. С. Оценка опухолевой инфильтрации костного мозга при множественной миеломе по результатам исследования трепанобиоптатов // *Вестник гематологию* — 2009. — Т. 5, № 1. — С. 49–50.
16. Tieu K. S., Tieu R. S., Martinez-Agosto J.A., Sehl M. E. Stem cell niche dynamics: from homeostasis to carcinogenesis // *Stem cells international.* — 2012. — Vol. 2012. — Id. 367567.
17. Scadden D. T. The stem cell niche in health and leukemic disease // *Best Pract Res Clin Haematol.* — 2007. — Vol. 20, № 1. — P. 19–27.
18. Raaijmakers M. H.G.P. Niche contributions to oncogenesis: emerging concepts and implications for the hematopoietic system // *Haematologica.* — 2011. — Vol. 96, № 7. — P. 1041–1048.
19. Bessmeltsev S., Rugal V. Stromal microenvironment and stem cell niches in multiple myeloma // *Haematologica.* — 2010. — Vol. 95, № 25. — P. 569–570.
20. Бессмельцев С. С., Абдулкадыров К. М. Множественная миелома: руководство для врачей // М., 2016. — 504 с.

Киселева Е. Е.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального-медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

АЛГОРИТМ ВЫЯВЛЕНИЯ И ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ В КРОВИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПЦР

Kiseleva E. E.

Federal State Budget Institution «Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and Biological Agency», St. Petersburg

ALGORITHM OF DETECTION AND IDENTIFICATION OF BACTERIA IN BLOOD USING PCR

Резюме. Проводилась оценка эффективности молекулярно-биологического метода выявления и видовой идентификации бактерий в крови с использованием ПЦР «в реальном времени». Эффективность метода в отношении взрослых пациентов онкогематологического отделения составила более 94 %. На основании проведенных исследований был разработан оптимизированный алгоритм выявления и идентификации бактерий в крови с использованием представленного метода.

Ключевые слова: сепсис, бактериемия, инфекции кровотока, гемокультивирование, ПЦР-РВ, инфекционные осложнения.

Summary. The effectiveness of molecular biological method of detection and identification of bacteria in blood using RealTime-PCR was evaluated. The effectiveness of the method for adult patients of oncohematological unit is over 94 %. Optimized algorithm of detection and identification of bacteria in blood using described method was developed from the study.

Key words: sepsis, bacteremia, blood stream infectious (BSI), hemoculture, PCR-RT, infectious complications.

Введение. Актуальность проблемы ранней диагностики бактериемии и сепсиса обуславливается тем, что генерализованные бактериальные инфекции являются тяжелыми осложнениями у гематологических больных, пациентов отделений интенсивной терапии, а также у лиц, подвергающихся воздействию неблагоприятных экологических и производственных факторов (ионизирующее излучение, компоненты ракетного топлива и др.) [1, 2, 3]. Ежегодно регистрируется более 18 миллионов случаев сепсиса по всему миру, а количество летальных исходов достигает 30–40 % (около 135 000 смертей в год в Европе и 215 000 в США) [4, 5]. Кроме того, на лечение сепсиса расходуются немалые средства: в США на каждого пациента с подтвержденным сепсисом тратится 25000\$ за госпитализацию, что составляет около 17 миллиардов \$ в год [4]. Успех в лечении сепсиса опреде-

ляется правильностью выбора стартовой эмпирической антибактериальной терапии, так как существующие микробиологические методы диагностики позволяют выявить возбудителя слишком поздно для принятия своевременных лечебных мер. Поэтому существует настоятельная необходимость совершенствования методов ранней диагностики бактериемии и сепсиса [6, 7].

В настоящее время «золотым стандартом» лабораторной диагностики бактериемий и сепсиса является гемокультивирование. При подозрении на инфекцию кровотока у пациента, еще до начала эмпирической терапии антибиотиками широкого спектра действия, производится забор крови для бактериального посева. Забор крови рекомендуется проводить 2–3 раза по 20–30 мл (по 10–15 мл для двух параллельных высевов на аэробные и анаэробные среды). Исследо-

вания показывают, что при меньшем объеме забираемой крови частота выявления возбудителей существенно снижается [8]. При культивировании крови наиболее широко используются две автоматические системы: BacT/ALERT (BioMerieux) и Bactec 9240 (BectonDickinson). Обе системы основаны на регистрации количества CO₂, выделяемого бактериями в процессе жизнедеятельности. Разработан широкий спектр сред для аэробного и анаэробного культивирования. Также важным достоинством автоматизированного культивирования является производство флаконов с добавками сорбентов, подавляющих антибиотики, что дает возможность анализа образцов, полученных от пациентов, уже принимавших антибиотики.

Срок культивирования посевов составляет 5–7 суток, по истечении которых образец, не давший роста, считается отрицательным. В случае же получения положительного сигнала, флакон немедленно вынимается из аппарата, проводится окрашивание по Граму (для определения грампринадлежности), а также пересев на твердую питательную среду (для получения чистой культуры). После получения чистой культуры происходит ее идентификация с помощью различных биохимических тестов, а также проводится тест на выявления резистентности к антибиотикам. Таким образом, результат анализа может быть получен только через несколько суток. Кроме того микробиологический метод неприемлем для прихотливых и некультивируемых бактерий, таких как микоплазмы, нокардии, риккетсии, хламидии и ряд других микроорганизмов.

С недостатками классического микробиологического метода призваны бороться новые разрабатываемые методики. Перспективными являются методы, основанные на применении технологии нуклеиновых кислот (NAT (Nucleic Acid Technology) -технологий), в частности полимеразной цепной реакции (ПЦР).

В гене 16S рРНК (наиболее часто разрабатываемом в данной группе методов) существует участок, общий для всех бактерий, что позволяет обнаружить присутствие бактерий в крови. Также в гене находятся участки, специфичные для определенных родов и видов бактерий. Кроме того, NAT-технологии применимы для обнаружения генов антибиотикорезистентности микроорганизмов.

В настоящее время существует две стратегии применения этого направления для диагностики сепсиса:

- прямое выявление нуклеиновых кислот микроорганизмов из цельной крови;
- использование ПЦР для быстрой видовой идентификации микроорганизмов после автоматического культивирования.

Первая группа методов позволяет идентифицировать микроорганизмы с помощью ПЦР прямо из образцов цельной крови. Основной трудностью является выделение бактериальной ДНК непосредственно из цельной крови, поскольку при сепсисе концентрация бактерий в крови взрослого человека составляет от < 1 до 100 КОЕ (колониеобразующих единиц) на мл. В настоящее время существует система MolYsis (Molzyme, Германия), которая позволяет не только получить приемлемое для дальнейшего анализа количество микробной ДНК, но также значительно лучше, чем другие подобные системы, очищает ее от человеческой ДНК и других ингибиторов ПЦР [9]. Однако выделение ДНК микроорганизмов напрямую из крови сопряжено с одним существенным недостатком — возможностью выделения ДНК уже нежизнеспособных микроорганизмов, не имеющих клинического значения, что приводит к получению ложноположительных результатов и назначению неверных антибиотиков. С другой стороны, данные методы обладают очень большим преимуществом — возможностью получения результатов анализа в течение 4–6 часов.

Вторая группа методов объединяет в себе достоинства как классического культурального метода, так и ПЦР:

- выявление микроорганизмов, способных к размножению, и быстрое определение их чувствительности к антибиотикам;
- высокая чувствительность методов (до 1 КОЕ/мл);
- возможность определения некультивируемых форм возбудителей;
- значительное сокращение времени анализа.

Суть этих методов заключается в том, что сразу после получения положительного сигнала из автоматического анализатора флакон с посевом крови изымают и выделяют бактериальную ДНК из гемокультуры для

дальнейшей идентификации с помощью ПЦР.

Несмотря на то, что методика выявления и идентификации микроорганизмов с помощью ПЦР с предварительным гемокультивированием не лишена недостатков (для проведения анализа требуется большой объем крови, наличие некультивируемых и сложнокультивируемых микроорганизмов), это очень перспективный метод, который успешно применялся в данном исследовании.

Целью данной работы была оценка эффективности молекулярно-биологического метода выявления и видовой идентификации бактерий в крови с использованием ПЦР «в реальном времени» (ПЦР-РВ), с последующей разработкой алгоритма применения этого метода.

Суть предлагаемого метода заключается в выявлении бактериальных возбудителей в крови при бактериемии и сепсисе с помощью автоматического бактериологического анализатора с последующей родовой и видовой идентификацией молекулярно-биологическим методом (ПЦР в «реальном времени»)

Материалы и методы. Поскольку метод выявления и видовой идентификации бактерий в крови разрабатывался в первую очередь для больных гемобластозами, на основании литературных и собственных данных был определен спектр основных возбудителей бактериемии и сепсиса для этой категории пациентов (более 95 %, рис. 1 и 2) [10,11].

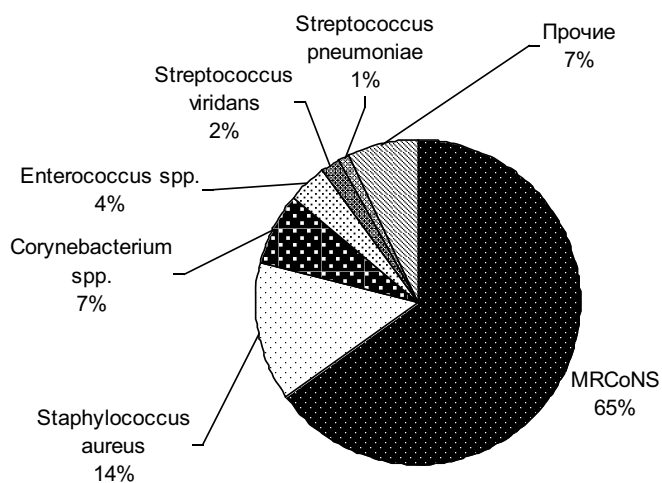


Рисунок 1.

Видовой состав грамположительных бактерий, наиболее частых возбудителей бактериемии и сепсиса

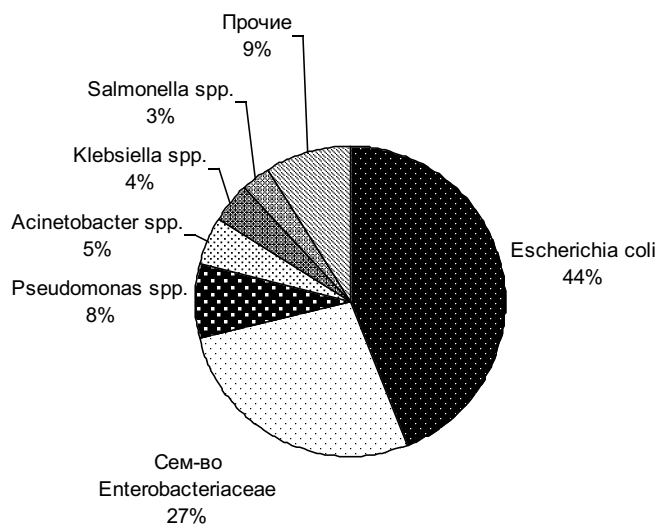


Рисунок 2.

Видовой состав грамотрицательных бактерий, наиболее частых возбудителей бактериемии и сепсиса

В соответствии с выявленным спектром совместно с ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора был разработан ряд наборов для постановки ПЦР-РВ для выявления определенных групп микроорганизмов, а также генов устойчивости к антибиотикам:

1. Набор реагентов «АмплиПрайм® ФлороЦеноз-Аэробы», для выявления ДНК бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, а также *Streptococcus spp.* и *Staphylococcus spp.*
2. Набор реагентов «ИМП-G+», для выявления ДНК бактерий рода *Enterococcus*.
3. Набор реагентов «G-», для выявления ДНК *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*.
4. Набор реагентов «ИМП-скрин-FL», для выявления ДНК *Escherichia coli*.
5. Набор реагентов «АмплиСенс®MRSA-скрин-титр-FL», для выявления ДНК метициллин-чувствительного (MSSA) и метициллин-резистентного (MRSA) *Staphylococcus aureus*, а также метициллин-резистентных коагулазонегативных *Staphylococcus spp.* (MRCoNS).
6. Набор реагентов «АмплиСенс®MDR MBL-FL», для выявления генов приобретенных карбапенемаз класса металло-β-лактамаз, групп VIM, IMP, NDM.
7. Набор реагентов «АмплиСенс®MDR KPC/OXA-48-FL», для выявления генов приобретенных карбапенемаз групп KPC, OXA-48-подобных.

В последние годы наметилась тенденция к возрастанию удельного веса микромицетов среди других инфекционных агентов, выявляемых в крови онкогематологических больных (в некоторые годы доля микромицетов среди выявляемых патогенов достигала почти 10%). Чаще всего выявляются дрожжеподобные грибы рода *Candida* [12]. В связи с этим было решено добавить набор реагентов для выявления ДНК грибов рода *Candida*:

8. Набор реагентов «АмплиСенс® ФлороЦеноз / Кандиды-FL», для выявления ДНК *C.albicans*, *C.glabrata*, *C.krusei*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*.

Все представленные наборы, а также методика на основе ПЦР-РВ для расшифровки этиологии септических состояний ранее были апробированы [13]. Часть наборов уже сертифицирована и выпускается фирмой ООО «ИЛС», а часть готовится к сертификации.

Материалами для исследования послужили 20 гемокультур, полученных при посевах крови больных различными опухолевыми заболеваниями системы крови.

Для оценки эффективности молекулярно-биологического метода выявления и видовой идентификации бактерий в крови больных идентификацию выделенных культур проводили 2-мя способами: с использованием общепринятых бактериологических методов (пересев на твердую питательную среду, проведение биохимических тестов) и с использованием новой методики на основе ПЦР-РВ.

Выделение ДНК из гемокультур проводилось с помощью набора ДНК-сорб-АМ» (ООО «ИЛС»), но процесс выделения был несколько модифицирован (добавлено предварительное центрифугирование образца для получения рабочего осадка; лизис клеток проводится не в присутствии сорбента; увеличен до 200 мкл объем ТЕ-буфера, добавляемого для растворения ДНК). Процесс амплификации и анализ результатов проводился в порядке, указанном производителем в инструкциях к наборам для постановки ПЦР-РВ.

Результаты и обсуждение. При обследовании 20 гемокультур для оценки эффективности молекулярно-биологического метода выявления и видовой идентификации бактерий были получены следующие результаты. В 7 образцах бактериологическим методом была обнаружена *E.coli*. Методом ПЦР-РВ в этих образцах была также обнаружена ДНК *E.coli*. В трех случаях

бактериологическим методом были выявлены неферментирующие грамотрицательные бактерии, в двух из которых идентифицирована *Ps.aeruginosa* и бактериологически и методом ПЦР-РВ. В третьем образце методом ПЦР-РВ не было обнаружено ДНК бактерий. Это, вероятно, связано с тем, что в разработанный набор вошли не все неферментирующие грамотрицательные бактерии, а только наиболее часто встречающиеся. В двух образцах микробиологическим методом обнаружены бактерии рода *Enterobacter*. При исследовании в ПЦР-РВ в этих образцах была выявлена ДНК бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, кроме того в незначительных количествах — ДНК *Kl.pneumoniae*. Поскольку *Enterobacter* не является часто встречающимся представителем семейства *Enterobacteriaceae*, он отдельно не был включен в разрабатываемый набор, но выявление большого количества ДНК сем. *Enterobacteriaceae* косвенно подтверждает результаты бактериологического анализа. В 6 случаях бактериологическим методом обнаружен *S.epidermidis*. Методом ПЦР-РВ в 5 образцах найдена ДНК *MRCoNs*, что совпадает с результатами микробиологии, а в одном — *MSSA*. Данный дискордантный результат может являться следствием изменения биохимических свойств штамма стафилококка под действием химиотерапии. Таким образом, эффективность метода составила более 94,4%.

По результатам проведенных исследований был разработан алгоритм выявления и видовой идентификации бактерий в крови с использованием молекулярно-биологического метода (рис. 3).

Предлагаемый алгоритм состоит в следующем: при подозрении на инфекции кровотока у пациента производится посев крови с дальнейшей инкубацией в автоматическом анализаторе (в соответствии с инструкцией производителя). Если рост отсутствует в течение 7 суток, врачу сообщается результат «роста нет». При наличии роста (аппарат сигнализирует об этом) флакон незамедлительно извлекается из аппарата и отбирается проба для выделения ДНК и проведения родовой и видовой идентификации с помощью ПЦР. При выявлении бактерий рода *Staphylococcus* дополнительно проводят определение метициллин-резистентности. При выявлении грамотрицательных бактерий образец дополнительно проверяется на наличие генов приобретенных карбапенмаз. Затем общий результат анализа сразу сообщают врачу.

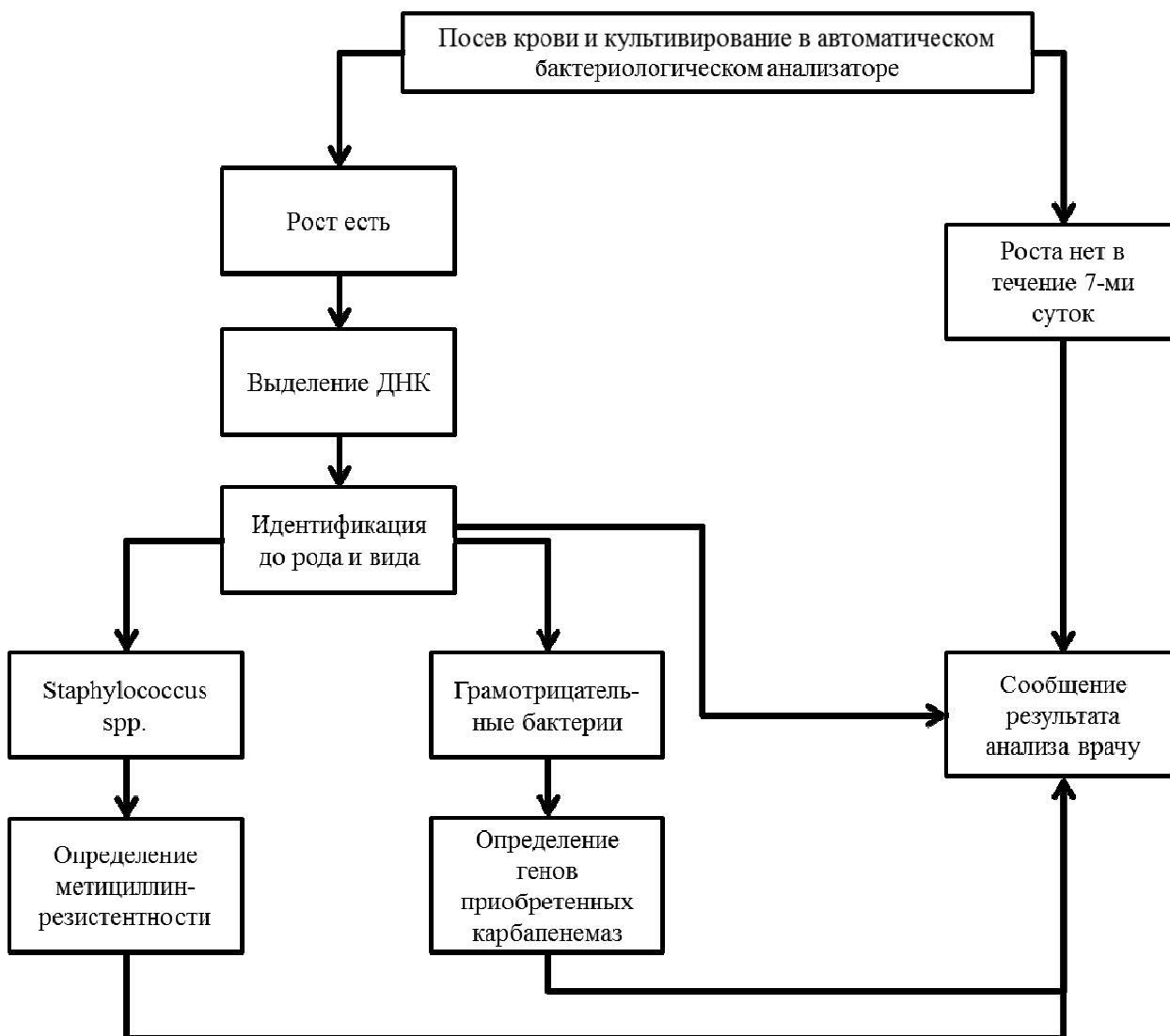


Рисунок 3.

Алгоритм выявления и видовой идентификации бактерий

Заключение. Результаты, полученные бактериологическими и молекулярно-биологическими методами, хорошо согласуются. Эффективность молекулярно-биологического метода родовой и видовой идентификации бактерий составила 94,4 %. Значимым преимуществом разработанного метода, как и алгоритма в целом, является возможность расширения круга выявляемых патогенов за счет дополнения набора тест-системами, а также адаптация состава наборов для различных групп пациентов, в зависимости от спектра выявляемых у них возбудителей.

Внедрение в практику разработанного оптимизированного алгоритма позволит

существенно сократить время проведения анализа, которое лимитируется только стадией роста микроорганизмов в автоматическом анализаторе (в зависимости от начальной концентрации бактерий в образце крови пациента эта стадия в среднем занимает от 8–12 часов до 5 суток и более), а процесс видовой и родовой идентификации патогенов с использованием ПЦР-РВ занимает всего 5–7 часов, в то время как идентификация патогена классическими микробиологическими методами занимает не менее 48 часов.

Литература

1. *Ibrahim E. U., Sherman G.* The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting // *Chest*. — 2000. — № 118. — P. 146–155.
2. *Valles A., Rello S., Ochagavia A. et al.* Community-acquired bloodstream infection in critically ill adult patients. Impact of shock and inappropriate antibiotic therapy on survival// *Chest*. — 2003. — № 123. — P. 1615–1624.
3. Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение: Практическое руководство / Под ред. В. С. Савельева, Б. Р. Гельфанда. — М., 2013. — 360 с.
4. *Angus, D. C., van der Poll, T.* Severe sepsis and septic shock// *New Engl. J. Med.* — 2013. — № 369. — P. 840–851.
5. *Lebovitz, E. E., Burbelo, P. D.* Commercial multiplex technologies for microbiological diagnosis of sepsis// *Mol. Diagn. Ther.* — 2013. — Vol.17. — № 4. — P. 221–231
6. *Dierkes C., Ehrenstein B., Siebig S. et al.* Clinical impact of a commercially available multiplex PCR system for rapid detection of pathogens in patients with presumed sepsis// *BMC Infect. Diseases*. — 2009. — Vol. 9. — № 126. — P. 1–7.
7. *Чеботкевич В. Н., Кайтанджан Е. И., Бурылев В. В. и др.* Современные методы лабораторной диагностики сепсиса// *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. — 2013. — Т. 15. — № 4. — С. 295–300.
8. *Lin H. — H., Liu Y. — F., Tien N. et al.* Evaluation of the blood volume effect on the diagnosis of bacteremia in automated blood culture system// *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. — 2013. — Vol.46. — P. 48–52.
9. *McCann C. D., Jordan J.A.* Evaluation of MolYsis Complete5 DNA extraction method for detecting *Staphylococcus aureus* DNA from whole blood in a sepsis model using PSR/pyrosequencing// *J. Microbiol. Methods*. — 2014. — Vol. 99. — P. 1–7.
10. *Westh H., Lisby G., Breyse F. et al.* Multiplex real-time PCR and blood culture for identification of bloodstream pathogens in patients with suspected sepsis // *Clin.Microbiol.Infect.* — 2009. — Vol.15. — P. 544–551.
11. *Щетинкина Е. Е., Бурылев В. В., Кайтанджан Е. И. и др.* Этиология бактериемий и сепсиса у больных гемобластозами// *БИОМЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ Medline.ru* — 2014. — Т. 15. — С. 511–518.
12. *Стижак Н. П., Кайтанджан Е. И., Щетинкина Е. Е. и др.* Этиология бактериемий и фунгемий у онкогематологических больных// *Проблемы медицинской микологии*. — 2014. — Т. 16. — № 2. — С. 133–134.
13. *Матосова С. В., Савочкина Ю. А., Гаврилов С. Н. и др.* Апробация методики на основе ПЦР в режиме реального времени для расшифровки этиологии септических состояний// *Вестник гематологии*. — 2014. — Т. X. — № 4. — С. 39–40.

Силина Н. Н.¹, Смирнова О. А.¹, Климова Н. И.², Жулев Ю. А.³, Чечеткин А. В.¹, Папаян Л. П.¹

¹ ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, Санкт-Петербург

² Центр по лечению гемофилии, Санкт-Петербург

³ Всероссийское общество гемофилии, Москва

СОСТОЯНИЕ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПАТОЛОГИИ ГЕМОСТАЗА В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Silina N. N.¹, Smirnova O. A.¹, Klimova N. I.², Zhulev Yu. A.³, Chechetkin A. V.¹, Papayan L. P.¹

¹ Russian research institute of hematology and transfusiology, Saint-Petersburg

² Center for the treatment of hemophilia, Saint-Petersburg

³ All-Russian Society of Hemophilia, Moscow

STATE OF LABORATORY DIAGNOSTIC OF HEMOSTASIS PATHOLOGY IN THE RUSSIAN FEDERATION

Резюме. Проведена оценка состояния лабораторной диагностики патологии гемостаза на основании анализа 521 анкеты-опросника лабораторий, осуществляющих диагностику патологии гемостаза, из 68 субъектов Российской Федерации. В связи с этим основными предложениями, высказанными респондентами по улучшению диагностики патологии гемостаза, были: выделение отдельных штатных единиц для исследования системы гемостаза, приобретение нового современного оборудования, получение сотрудниками специализации по клинической гемостазиологии, бесперебойные поставки реактивов и расходных материалов, внедрение новых методов исследования системы гемостаза, улучшение финансирования подразделения, осуществляющего диагностику нарушений гемостаза, и участие сотрудников в специализированных конференциях

Ключевые слова: Патология гемостаза, лабораторная диагностика.

Abstract. The evaluation of the state of haemostasis pathology laboratory diagnostics was based on analysis of 521 laboratories questionnaires of the 68 subjects of the Russian Federation. The main suggestions for improvement of the haemostasis pathology diagnostics of were: the selection of individual staff units for the study of the haemostatic system, the new equipment, the possibility of the staff to specialize in Clinical Haemostasis, regular reagents supplement, the introduction of new methods of haemostatic system investigation, improved financial possibilities and staff participating in specialized conferences.

Key words: Pathology of haemostasis, laboratory diagnostics.

Введение. Установление точного диагноза геморрагического диатеза, определение лежащего в его основе механизма гемостатических нарушений необходимо для проведения адекватной этиопатогенетической терапии, для подготовки больных перед плановыми оперативными вмешательствами и, наконец, для решения ряда медико-социальных проблем, в том числе, и возможной генетической

консультации, освобождения некоторых лиц от службы в армии [1]. Своевременная диагностика позволяет осуществить и диспансеризацию больных, которая содействует проведению профилактических мероприятий, улучшению лечения больных в период геморрагических эксцессов, что нередко предотвращает летальные исходы [2, 3]. Изолированное или сочетанное изменение в реакци-

ях одного или нескольких звеньев гемостаза может привести к развитию геморрагического диатеза (синдрома, характеризующегося повышенной кровоточивостью). Причина его может быть первично связанной с генетическими нарушениями или вторичной, т. е. обусловленной серьезными соматическими изменениями [1, 2]. Однако клинические проявления геморрагического диатеза при разных формах гемостазиопатий, особенно относящихся к патологии одного звена гемостаза, бывают в некоторой степени сходными. Это затрудняет диагностику, которая должна проводиться на основании анализа клинических признаков и данных лабораторных методов исследования [2, 3, 4].

Цель исследования. Оценить состояние лабораторной диагностики патологии гемостаза в Российской Федерации.

Материалы и методы исследования. Для определения состояния лабораторной диагностики геморрагических диатезов в учреж-

дениях здравоохранения Российской Федерации был проведен анализ 521 анкеты-опросника лабораторий, осуществляющих диагностику патологии гемостаза, из 68 субъектов Российской Федерации.

Результаты исследования. На основе анализа представленных материалов установлено, что оценка состояния гемостаза преимущественно проводится в клинико-диагностических лабораториях (91,18%), реже в биохимических лабораториях (3,45%), подразделениях гематологического профиля (0,57%) и других (0,38%). На долю лабораторий патологии гемостаза приходится всего лишь 0,38%. Диагностика патологии гемостаза не осуществляется в 1,93% опрошенных лабораториях, профиль подразделения не указан в 2,11% (Таблица 1).

Таблица 1.

Подразделения, осуществляющие диагностику патологии гемостаза (n = 521)

№ п/п	Наименование	n	%
1	Клинико-диагностическая лаборатория	475	91,18
2	Биохимическая лаборатория	18	3,45
3	Подразделения гематологического профиля	3	0,57
4	Лаборатория патологии гемостаза	2	0,38
5	Другие подразделения	2	0,38
6	Исследования не проводятся	10	1,93
7	Подразделение не указано	11	2,11

Распределение штатных единиц в подразделениях (Медиана, 95% доверительный интервал) приведено в таблице 2.

Таблица 2.

Штат лаборатории, осуществляющей диагностику патологии гемостаза

Сотрудники	Количество ставок (Ме, 95% ДИ)	Нет ставок		Нет данных	
		n	%	n	%
Общее количество штатных единиц (n = 485)	17 2,53–96,23	1	0,19	35	6,72
Врач клинической лабораторной диагностики (n = 470)	3 1,00–26,38	37	7,10	14	2,69
Биолог (n = 221)	2 1,00–14,25	286	54,89	14	2,69
Средний медицинский персонал (n = 496)	12 1,59–57,25	11	2,11	14	2,69

Отдельные штатные единицы для исследования системы гемостаза выделены в 15,16 % подразделений, в 79,66 % таковые отсутствовали, не представили сведения 5,18 % респондентов.

Специализацию по клинической гемостазиологии имеют лишь 18,04 % сотрудников, не имеют — 77,16 %, не предоставили данные 4,80 % лабораторий.

Основными источниками финансирования в 89,83 % центров являются фонды обязательного медицинского страхования, добровольного медицинского страхования — в 12,67 %, 15,16 % лабораторий финансируются физическими лицами, в 8,45 % случаев из других источников, 5,76 % опрошенных не ответили на вопрос.

Исследования системы гемостаза 32,82 % опрошенных проводят на водяной бане, другие используют полуавтоматические и автоматические коагулометры в 62,77 % и 28,79 % случаев соответственно.

Обеспеченность реактивами и расходными материалами оценили как достаточную 83,11 % респондентов, недостаточную — 10,36 % и не ответили на поставленный вопрос 6,53 % подразделений.

Определение всех скрининговых тестов коагулограммы, таких как активированное парциальное тромбопластиновое, протромбиновое и тромбиновое время и концентрация фибриногена, проводится в 248 (47,60 %) центрах. Количество проведенных исследований представлено в *таблице 3*.

Таблица 3.

Скрининговые тесты коагулограммы

Тест	Количество в месяц (Ме, 95 % ДИ)	Не определяют		Количество не указано		Нет данных	
		n	%	n	%	n	%
АПТВ (n=425)	300 10,00–5452,00	75	14,97	24	5,65	18	3,46
Протромбиновое время (n=490)	500 16,70–7929,50	16	3,07	35	7,14	15	2,88
Тромбиновое время (n=248)	200 8,00–5173,13	258	49,52	21	8,47	15	2,88
Концентрация фибриногена (n=452)	350 10,00–5850,00	54	10,36	31	6,86	15	2,88

Исследование активности фактора VIII проводят всего лишь в 54 (10,36 %) лабораториях, что в среднем в месяц составляет 12 (1,00–237,50) определений, а оценка ингибитора к фактору VIII осуществляется в 28 (5,37 %) центрах, в среднем 6,5 (1,00–49,78) тестов. В 47 (9,02 %) подразделениях проводится определение активности фактора IX, в среднем 5 (1,00–54,79) определений в месяц, а ингибитор к фактору IX — в 23 (4,42 %) лабораториях по 2 (1,00–18,00) теста.

Индукцированную агрегацию тромбоцитов исследуют в 73 (14,01 %) лабораториях. Сред-

няя нагрузка в месяц составляет 50 (2,00–950,00) определений.

Ристоцетин-кофакторную активность фактора Виллебранда определяют в 38 (7,29 %) лабораториях, в среднем в месяц 12 (0,89–84,50) исследований.

В подразделениях, осуществляющих диагностику патологии гемостаза, также проводят диагностику коагулопатий. Распределение определений активности отдельных факторов свертывания крови представлено ниже (*Таблица 4*).

Определение активности отдельных факторов свертывания крови

Тест	Количество в месяц (Ме, 95% ДИ)	Не определяют		Количество не указано		Нет данных	
		n	%	n	%	n	%
Активность фактора VII (n = 17)	3 1,35–29,95	489	93,86	2	11,76	15	2,88
Активность фактора V (n = 16)	3 1,00–48,10	490	94,05	1	6,25	15	2,88
Активность фактора X (n = 16)	4 2,00–25,60	490	94,05	1	6,25	15	2,88
Активность фактора XI (n = 14)	2 1,30–37,00	192	94,43	1	7,14	158	2,88
Активность фактора XII (n = 15)	3,5 1,00–38,05	491	94,24	1	6,67	15	2,88

Причины, по которым не проводится диагностика патологии гемостаза, были следующие: отсутствие запроса от врачей в 23,03 %, оборудования — 19,96 %, реактивов — 9,98 %, обученного персонала — 7,87 % и нерентабельность исследований в 11,90 % случаев.

Выбор оборудования и реагентов предоставляется только 59,89 % респондентов.

Работа в лабораториях, которые проводят исследования гемостаза, осуществляется согласно протоколам лаборатории (26,87 %), национальным (57,77 %) и международным (29,84 %) стандартам, но лишь 36,66 % опрошенных имеют доступ к последним.

В системе оценки внутреннего контроля качества участвуют 85,99 % подразделений, внешнего — 70,83 %, и лишь 6,14 % респондентов знают о наличии референтной лаборатории в регионе.

Анализ проведенного анкетирования 521 учреждения из 68 субъектов Российской Фе-

дерации, осуществляющих диагностику патологии гемостаза, позволяет сделать заключение, прежде всего, об отсутствии достаточного числа квалифицированных кадров, современного оборудования для исследования гемостаза и бесперебойной поставки реактивов.

В связи с этим основными предложениями, высказанными респондентами по улучшению диагностики патологии гемостаза были: выделение отдельных штатных единиц для исследования системы гемостаза, приобретение нового современного оборудования, получение сотрудниками специализации по клинической гемостазиологии, бесперебойные поставки реактивов и расходных материалов, внедрение новых методов исследования системы гемостаза, улучшение финансирования подразделения, осуществляющего диагностику нарушений гемостаза и участие сотрудников в специализированных конференциях.

Литература

1. Гематология: рук. для врачей / под ред. Н. Н. Мамаева. — 2-е изд., доп. и испр. — СПб.: СпецЛит, 2011. — С. 92–112.
2. Летаген С. Гемостаз и геморрагические заболевания: пер. с англ. — М.: Аир-Арт, 2004. — С. 25–30, 45–53.
3. Kitchen S., McCraw A. Diagnosis of haemophilia and other bleeding disorders. A laboratory manual. World Federation of Hemophilia Laboratory Sciences Committee, 2010–105 p.
4. Момот А. П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. — СПб.: Формат, 2006. — 208 с.

Морозова Т. В., Кацадзе Ю. Л., Кобилянская В. А.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

**ИССЛЕДОВАНИЕ НАРУШЕНИЙ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА
У БОЛЬНЫХ ДИФТЕРИЕЙ (РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ)**

Morozova T. V., Katsadze U. L., Kobilyanskaya V. A.

Russian research institute of hematology and transfusiology, Saint-Petersburg

**DIPHTHERIA PATIENS HAEMOSTASIS SYSTEM
FAILURE INVESTIGATION (RETROSPECTIVE ANALYSIS)**

Резюме. В статье представлены данные о состоянии системы гемостаза у 46 больных дифтерией в динамике наблюдения. Ведущим нарушением в системе гемостаза у обследованных больных является значительная активация тромбоцитов на протяжении всего срока наблюдения с 1-го по 25-й день болезни.

Ключевые слова: Дифтерия, тромбоциты, тромбоцитопатия.

Abstract. The article presents data on the state of the hemostatic system in 46 patients with diphtheria in the dynamics of observation. The leading disorder in the system of hemostasis in patients is a significant activation of platelets during the entire observation period from 1 to 25 days of illness.

Key words: platelet, diphtheria, thrombocytopenia.

Введение. Снижение охвата профилактическими прививками привело к эпидемии дифтерии в нашей стране в период с 1991 по 2000 годы. Заболеваемость составляла 1,26 на 100 тысяч населения, а к 1997 году достигала 2,7 на 100 тысяч, по распространенности заняв первое место в мире, летальность превышала 2,6 % [3]. В ряде областей отмечались повторные вспышки заболевания (2000–2004 гг.), а спорадические случаи имеют место и в настоящее время. За последние годы значительно увеличилась частота носительства токсигенных и нетоксигенных штаммов у здоровых людей, что является неблагоприятным признаком [2, 3].

Одновременно с ростом заболеваемости наблюдалось существенное увеличение числа тяжелых и осложненных форм дифтерии, большинство из которых сопровождалось геморрагическим синдромом. Известно, что в патогенезе дифтерии ключевая роль принадлежит дифтерийному экзотоксину, а специфическая терапия, направленная на его инактивацию оказывается не всегда

эффективной. Одним из существенных звеньев патогенеза при данном инфекционном заболевании являются нарушения в системе гемостаза, вплоть до развития синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови [1, 10, 11, 12, 13]. Однако, конкретные нарушения в системе гемостаза при дифтерии, особенно его сосудисто-тромбоцитарного звена, изучены недостаточно и по этому поводу нет единого мнения в связи с редкостью выявления и отсутствием возможности исследования [7]. Между тем, изменения в этом звене патогенеза имеют существенное значение в разработке лечебной программы, которая бы позволила улучшить результаты лечения больных. Остается также открытым вопрос, насколько долго сохраняются нарушения в системе гемостаза и что может приводить к развитию поздних геморрагических осложнений.

Цель работы. В связи с вышеизложенным целью настоящей работы явилось изучение особенностей нарушений коагуляционного

и тромбоцитарного звеньев гемостаза у больных дифтерией в динамике.

Материалы и методы. Материалом для исследования служила плазма крови 30 практически здоровых лиц и 46 больных дифтерией (14 мужчин и 32 женщин), находившихся на лечении в инфекционной больнице № 30 им. С. И. Боткина. Из обследованных нами больных токсическая форма дифтерии I–III степени была диагностирована у 26 человек, субтоксическая у 7 и локализованная у 13 человек, диагноз был подтвержден бактериологическим исследованием. У всех больных геморрагический синдром развивался со 2–4-го дня болезни в виде кровоизлияний в слизистую полости рта и носа, экхимозов в местах инъекций, геморрагического пропитывания налетов. Наиболее выраженные проявления геморрагического синдрома наблюдались у больных с токсическими формами заболевания II–III степени. Обследование больных проводилось на 1–5, 6–10, 11–15, 21–25 сутки от начала болезни. Кровь получали путем венепункции локтевой вены и стабилизировали 3,8 % раствором основного цитрата натрия в соотношении 9:1.

Для оценки состояния плазменного звена гемостаза использовали скрининговые тесты: протромбин по Квику, индекс АПТВ, тромбиновое время, концентрация фибриногена.

Оценка внутрисосудистой активации тромбоцитов (ВАТ) проводилась методом

А. С. Шитиковой (1991 г.) с использованием фазово-контрастного микроскопа. Определялась сумма активных форм тромбоцитов, число тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты, процент различных по размеру тромбоцитов. Индуцированная агрегация тромбоцитов исследовалась на оптическом агрегометре АТ-02 в богатой тромбоцитами плазме с использованием в качестве индукторов агрегации АДФ и коллагена. Полученные данные обработаны методом вариационной статистики с использованием параметрического метода Стьюдента-Фишера.

Результаты и обсуждение. Изменения коагуляционных параметров характеризовались повышением концентрации фибриногена, как белка острой фазы воспаления. С первого дня заболевания его концентрация была достоверно повышена у 95 % больных, а к концу наблюдения оставалась высокой у 14 % больных. Однако показатели остальных тестов практически у всех больных были в норме, что подтверждает их малую информативность для оценки гиперкоагуляционного состояния. В отличие от коагуляционных параметров, отмечались существенные изменения со стороны тромбоцитарного звена гемостаза.

Данные исследования внутрисосудистой активации тромбоцитов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Показатели внутрисосудистой активации тромбоцитов у больных дифтерией по срокам наблюдения ($X \pm Sx$)

Показатели		Норма ($X \pm Sx$)	Дни наблюдения				
			1-5 сутки	6-10 сутки	11-15 сутки	16-20 сутки	21-25 сутки
n		40	19	18	16	7	
Формы тромбоцитов, %	Д	86,5 ± 0,5	40,3 ± 3,85*	33,5 ± 3,5*	44,8 ± 4,25*	47,1 ± 4,0*	42,5 ± 5,3*
	ДЭ	9,8 ± 0,5	27,1 ± 0,34*	33,1 ± 3,2*	25,5 ± 2,7*	24,3 ± 2,64*	27,3 ± 3,4*
	С + СЭ	3,0 ± 0,3	32,1 ± 2,53*	32,6 ± 1,5*	29,0 ± 2,6*	28,6 ± 2,9*	30,2 ± 2,5*
Сумма активных форм тромбоцитов, %		12,8 ± 0,5	59,2 ± 6,0*	65,7 ± 3,6*	54,5 ± 4,3*	52,8 ± 3,9*	57,5 ± 5,3*
Число тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты, %		6,8 ± 0,4	7,96 ± 1,2	10,1 ± 1,96*	8,65 ± 1,3**	5,98 ± 1,3	7,4 ± 2,4
Агрегаты, %	малые	3,2 ± 0,3	3,37 ± 0,51	4,56 ± 0,8*2	3,61 ± 0,6	3,1 ± 0,58	2,7 ± 0,9
	средние и большие	0,12 ± 0,06	0,35 ± 0,1**	1,27 ± 0,33*	1,4 ± 0,6*	0,34 ± 0,3	0,3 ± 0,20

Примечание: * - $p < 0,001$, ** - $p < 0,05$

Как видно из представленных в *таблице 1* данных, у больных отмечалось значительное увеличение числа активных форм тромбоцитов во все сроки наблюдения. Число дискоэхиноцитов (ДЭ) составило $27,1 \pm 0,34\%$ при норме $9,8 \pm 0,5\%$ уже в первые дни наблюдения, сумма сфероцитов (С) и сфероэхиноцитов (СЭ) — $32,1 \pm 2,53\%$ при норме $3,0 \pm 0,3\%$ ($p < 0,001$). Число дискоцитов (Д) — интактных тромбоцитов было достоверно снижено до $40,3 \pm 3,85\%$ при норме $86,5 \pm 0,5\%$ ($p < 0,001$). Нами выявлена следующая закономерность: кратность увеличения суммы С+СЭ значительно превосходила кратность увеличения ДЭ, последняя увеличивалась в 2,7–3,4 раза, тогда как увеличение суммы С и СЭ происходило 10,8 раз, что подтверждает факт значимой активации тромбоцитарного звена гемостаза. Сумма активных форм тромбоцитов значительно превышала нормальные показатели во все сроки наблюдения и составляла в первые дни болезни $59,5 \pm 6\%$ против $12,8 \pm 0,5\%$ ($p < 0,001$). Необходимо отметить, что и к 25-му дню наблюдения этот показатель составлял $57,5 \pm 5,3\%$. У отдельных больных такие изменения сохранялись вплоть до 49-го

дня заболевания. Имелась тенденция к увеличению числа тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты. Это увеличение было статистически достоверно на 6–10-й и 11–15-й дни болезни и составляло $10,1 \pm 1,96\%$ и $8,65 \pm 1,3\%$ соответственно при норме $6,8 \pm 0,4\%$ ($p < 0,001$). Статистически значимо увеличивалось число средних и больших агрегатов. Так к 6–10-му дню оно составляло $1,27 \pm 0,33\%$, а на 11–15-й дни достигало $1,4 \pm 0,6\%$ ($p < 0,001$) при норме $0,12 \pm 0,06\%$, что также свидетельствовало о значительно повышенной активации тромбоцитов.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что дифтерийный токсин с первых дней заболевания значительно активизирует кровяные пластинки, что выражается в увеличении суммы их активных форм, числа тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты [4, 5].

Исследование индуцированной агрегации подтвердило выраженную активацию тромбоцитов, о чем свидетельствовало развитие дефицита пула хранения в связи с выбросом активных субстанций из тромбоцитарных гранул [8].

Данные представлены в *таблице 2*.

Таблица 2

Показатели индуцированной агрегации тромбоцитов больных дифтерией ($X \pm S_x$) по срокам наблюдения

Показатели		Норма ($X \pm S_x$)	Дни наблюдения					
			1-5 сутки	6-10 сутки	11-15 сутки	16-20 сутки	21-25 сутки	
n		40	19	22	15	8	9	
Максимальная амплитуда, %	АДФ 10^{-6} М	$16,8 \pm 1,1$	$12,4 \pm 2,0^*$	$8,4 \pm 1,52^{**}$	$7,4 \pm 0,9^{**}$	$7,7 \pm 1,1^{**}$	$7,4 \pm 1,63^{**}$	
	АДФ 5×10^{-6} М	I волна	$32,8 \pm 2,2$	$18,0 \pm 2,77^{**}$	$14,9 \pm 2,65^{**}$	$12,7 \pm 1,8^{**}$	$15,9 \pm 2,69^{**}$	$18,1 \pm 4,7^{**}$
		II волна	$14,7 \pm 1,7$	0**	0**	0**	0**	0**
	Коллаген		$43,6 \pm 2,1$	$26,9 \pm 5,2^{**}$	$34,7 \pm 3,95^*$	$24,9 \pm 6,2^{**}$	$37,6 \pm 8,2^{**}$	$29,8 \pm 10,0^{**}$

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,001$ по сравнению с нормой

Как видно из данных *таблицы 2*, во все сроки наблюдения максимальная амплитуда достоверно отличалась от нормы. Так при использовании пороговой дозы АДФ она составляла $12,4 \pm 2,0\%$ против $16,8 \pm 1,1\%$ в контроле. К 25-му дню наблюдения этот показатель оказался еще более сниженным и составлял всего $7,4 \pm 1,63\%$, что в 2,2 раза ниже нормы ($p < 0,001$). Эти данные дают возмож-

ность констатировать повреждающее действие дифтерийного токсина на мембранные структуры тромбоцитов, в связи с чем и снижена агрегация с пороговой дозой. При исследовании агрегации с оптимальной дозой АДФ максимальная амплитуда первой волны также была снижена во все сроки болезни и составляла $18,0 \pm 2,77\%$ против $32,8 \pm 2,2\%$ ($p < 0,001$), что в 1,8 раз ниже нормы,

наиболее значительное снижение отмечалось на 11–15-й дни. Вторая волна агрегации во все сроки и у всех больных отсутствовала. Агрегация с коллагеном также была достоверно снижена уже в первые дни болезни и составляла $26,9 \pm 5,2\%$ против $43,6 \pm 2,1\%$ ($p < 0,001$), но и к 25-му дню составляла всего лишь $29,8 \pm 10,0\%$, что в 1,4 раза ниже нормы. Полученные результаты характеризуют нарушение реакций высвобождения из тромбоцитов и доказывают развитие тромбоцитопатии высвобождения при дифтерии [4, 6].

При сопоставлении данных, полученных нами при исследовании тромбоцитарного звена гемостаза на протяжении 25 дней наблюдения, можно отметить нарушения, выражающиеся в значительной активации тромбоцитов у всех больных. Появление активных форм тромбоцитов (С и СЭ) в значительно

превышающем норму количестве подразумевает развитие дефицита пула хранения, что и подтверждается функциональными тестами, которые выявляют тромбоцитопатию высвобождения [5, 6, 9].

Заключение. Таким образом, проведенное нами исследование свидетельствует о выраженном активирующем действии дифтерийного токсина на состояние системы гемостаза. Особенно важным является выявленный факт ранней и значительной активации тромбоцитов с первых дней болезни, сохраняющейся на протяжении длительного времени. Развитие дефицита пула хранения тромбоцитарных гранул явилось главной причиной тромбоцитопатии высвобождения, клинические проявления которой значительно утяжеляли течение болезни.

Литература

1. Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. — М.: Ньюдиамед, 2001. — С. 114–116.
2. Батаева С. Е., Харченко Г. А., Буркин В. С. Токсические формы дифтерии у привитых детей. // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2004. — № 3. — С. 53–55.
3. Зрячкин Н. И. Дифтерия: клинко-эпидемиологические особенности современного течения, патогенез и обоснование рациональной гормонотерапии: Автореф. дисс... д-ра мед наук. — Саратов, 2000. — 40 с.
4. Шитикова А. С. Алгоритм диагностики тромбоцитопатий высвобождения // Казанский медицинский журнал. — 1990. — № 3. — С. 206–211.
5. Шитикова А. С. Изменение формы тромбоцитов как показатель их внутрисосудистой активации // Клинико-лабораторная диагностика предтромбоза и тромботических состояний. — СПб, 1991. — С. 38–51.
6. Шитикова А. С. Тромбоцитарный гемостаз. — СПб. 2000. — С. 189–201.
7. Шульдяков А. А., Киричук В. Ф., Зайцева И. А., Антипова О. Н. Состояние тромбоцитарного звена системы гемостаза у больных дифтерией в ранние сроки заболевания // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2000. — № 4. — С. 30–31.
8. Шакурный В. И., Шахитджанов С. С., Свешников А. И. Активаторы, рецепторы и пути внутриклеточной сигнализации в тромбоцитах. // Биомед. Химия. — 2014. — № 2. — С. 182–200.
9. Mareo Cattaneo. The Platelet P2 Receptor // Platelets. — 2007. — P. 75–94.
10. Raj S. Kastburi and Nigel S. Key. Disseminated intravascular coagulation and other microangiopathies. // Practical Haemostasis and Thrombosis. — 2005. — P. 91–100.
11. Favalaro E. J., Lippi G., Franchini M. Contemporary platelet function testing // Clin. Chem. Lab. Med. — 2010. — Vol. 48. — P. 579–598.
12. Harrison P., Mackie I., Mumford et. al. Guildelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function // Br. J. Haematol. — 2011. — Vol. 155. — P. 30–44.
13. Andrews R. K., Arthur J. E. Gardiner E. E. Neutrophil extracellular traps and role of platelets in infection. // Thrombosis and Haemostasis. — 2014. — Vol. 112. — № 4. — P. 659–665.

Панахова Д. З.

*Кафедра пропедевтики внутренних болезней (зав. кафедрой д. м. н., проф. И. А. Шамов)
Кафедра госпитальной терапии № 1 (зав. кафедрой д. м. н., проф. Мамаев С. Н.) ФГБОУ ВО «Дагестанский
государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Махачкала*

АНЕМИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Panahova D. Z.

*The Department of propedeutics of internal diseases
The Department of Hospital Therapy № 1 SBEI HPE "Dagestan state medical University, Russian Ministry of health", Makhachkala,*

ANAEMIA OF CHRONIC DISEASES

Резюме. Анемия хронических заболеваний — группа анемий, возникающая при длительном течении различных хронических инфекционных, воспалительных, онкологических и аутоиммунных заболеваний и имеющая черты железодефицитной. В развитии заболевания играют роль новые факторы обмена железа — гепсидин, ферропортин, в результате чего оно носит черты железодефицитной анемии. В то же время лечение препаратами железа может даже ухудшить состояние, в свете чего дифференциальная диагностика этой формы от истинной железодефицитной анемии имеет важное практическое значение.

Ключевые слова: анемия, анемия хронических заболеваний, гепсидин, ферритин, ферропортин.

Актуальность. В последние годы установлено, что анемии, ранее называемые анемиями перераспределения железа (ныне именуемые анемиями хронических заболеваний (АХЗ), возникающие при различных хронических инфекционных, воспалительных, онкологических и аутоиммунных заболеваниях и имеющие черты железодефицитных, могут быть отдифференцированы от истинной ЖДА при помощи ряда новых тестов. Одним из таких тестов является гепсидин (ГП). Также имеются различия в количестве ферритина сыворотки крови и эритроцитов, а также ферропортина (ФП).

Данное исследование является мета-анализом работ этого плана, преимущественно отечественных.

Abstract. Anemia of chronic diseases — a group of anemia occurring in the long course of chronic infectious, inflammatory, oncologic and autoimmune diseases, with features of iron deficiency. In the development of the disease play role new factors of iron metabolism — hepcidin, ferroportin, in which case it has the traits of iron deficiency. At the same time iron therapy may even deteriorate the conditions, therefore differential diagnosis of this form of true iron deficiency anemia is of practical importance.

Key words: anemia, anemia of chronic disease, hepcidin, ferritin, ferroportin

АХЗ — сложный в патогенетическом отношении компонент ответа организма на длительно протекающий опухолевый, инфекционный, воспалительный или аутоиммунный процесс. В его основе лежит нарушенная пролиферация эритроидных предшественников. Анемия является следствием искаженного обмена железа, сниженного ответа на эритропоэтин (ЭПО) и значительной активности про- и противовоспалительных цитокинов [1].

Основные моменты патогенеза АХЗ Обмен железа

Железо — важнейший элемент, играющий большую роль во многих клеточных и тканевых функциях, включая транспорт кислоро-

да, синтез нуклеотидов, митохондриальное дыхание и иммунную защиту. Железо всасывается из пищи энтероцитами 12-перстной кишки и из них сложным путём поступает в плазму [2, 3]. В плазме железо через растворимые рецепторы трансферрина (РРТФ), расположенные на поверхности ряда макрофагов, связывается с железотранспортирующим белком — трансферрином (ТФ), проходит ряд изменений, после которых оно возвращается в кровотоки и используется на синтез гемоглобина (Hb) и другие потребности организма [1, 2].

Большая часть железа в организме (около $\frac{2}{3}$) содержится в геме Hb. В норме это железо не теряется из организма, а эффективно рециркулирует. Стареющие эритроциты фагоцитируются макрофагами селезенки и печени, в которых происходит освобождение железа, которое затем либо запасается, либо снова поступает в кровообращение и через ФП, связанный с ТФ, заново используется костным мозгом и другими тканями, продолжая цикл рециркуляции [2, 4].

Таким образом, абсорбция железа, его рециркуляция, хранение и утилизация являются процессами связанными, но дистанционно удаленными. Поэтому естественно было предположить, что существует гуморальный регулятор, влияющий на эти процессы.

Как установлено в последние годы, роль универсального гуморального регулятора метаболизма железа выполняет ГП. ГП является 25-аминокислотным пептидом, богатым цистеином, который синтезируется в печени. Человеческий ГП образуется из С-терминальной части 84-аминокислотного предшественника. Пропептид ГП кодируется мРНК, генерируемой из 3-го экзона USF-2 гена, расположенного на хромосоме 19 [3, 5].

ГП ингибирует высвобождение железа в плазму, уменьшая количество ФП. Ферропортином богаты такие железо-экспортирующие клетки, как энтероциты, гепатоциты и макрофаги. ГП связывается с ФП, вызывая, по-видимому, конформационные изменения. Это приводит к эндоцитозу и последующей лизосомальной деградации комплекса ГП-ФП, в результате чего уменьшается клеточный экспорт железа. Следовательно, взаимодействие ГП и ФП препятствует оттоку железа в плазму, способствуя гипоферремии.

Контроль гомеостаза железа ГП представ-

ляет собой классическую систему эндокринной регуляции. ГП регулирует уровень железа, и, в свою очередь, производство ГП регулируется уровнем железа в кровообращении и в депо печени: когда железо в избытке, производство ГП увеличивается, чтобы ограничить поглощение железа из пищи и выпуск его из депо; когда же имеется потребность в железе, производство ГП уменьшается, что позволяет железу поступать в плазму для удовлетворения потребности в нем.

Производство ГП также регулируется эритропоэтической деятельностью через гормон эритроферрон и, возможно, другими медиаторами, гарантируя подавление уровня ГП, когда железо нужно для синтеза гемоглобина.

Кроме того, экспрессия ГП индуцируется воспалительными цитокинами, такими как интерлейкин-6 (ИЛ-6), интерлейкин-22 (ИЛ-22), фактор некроза опухолей- α (ФНО- α), активин В и липополисахариды (ЛПС) [3,4]. Считается, что это механизм иммунной защиты для уменьшения доступности железа для внеклеточных патогенов, так как присутствие железа создает благоприятные условия для роста и размножения бактерий.

В условиях воспаления развивается перепроизводство ГП. Такие хронические воспалительные заболевания, как воспалительные заболевания кишечника (неспецифический язвенный колит, болезнь Крона) и ревматологические заболевания вызывают повышение уровня ГП, гипоферремию и анемию [4].

Для АХЗ характерно также удержание железа макрофагами, что ведет к ограничению его доступности эритроидным предшественникам и железодефицитному эритропоэзу.

Макрофаги имеют различные пути связывания железа. Важнейшие из них: 1. эритрофагоцитоз; 2. связывание железа через трансмембранный белок — двухвалентный металлотранспортер-1 (ДМТ-1); 3. связывание железа через РРТФ; 4. связывание железа через Hb/гемопексин — гаптоглобиновый комплекс с участием CD91 или CD164.

Про- и противовоспалительные цитокины различным образом нарушают захват железа эритроидными предшественниками. ФНО- α увеличивает эритрофагоцитоз через стимуляцию таргентных рецепторов макрофагов и повреждает эритроциты, в результате уменьшается длительность жизни эритроцитов. Интерферон- γ (ИФН- γ) и ЛПС увеличивают транспорт сывороточного железа

в активированные макрофаги. В то же время ИЛ-4, ИЛ-10 и ИЛ-13 увеличивают трансферрин-опосредованный транспорт железа в активированные макрофаги. Вместе с тем ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-6 содействуют хранению железа в макрофагах путем стимуляции экспрессии ферритина. Описанные выше сложные и многочисленные механизмы обеспечивают поступление железа в макрофаги и его хранение.

Важно учитывать, что клетки высвобождают железо через белок ФП. Экспрессия мРНК ФП (способность к высвобождению железа макрофагами) снижается под воздействием ЛПС и ИФН- γ , что приводит к задержке железа в моноцитах и макрофагах.

Нарушение пролиферации и дифференцировки клеток эритропоэза

Это следующий (за нарушениями обмена железа) важнейший фактор развития АХЗ. Он может быть связан с проапоптотическими эффектами ИФН- γ , ИФН- α , ФНО- α и ИЛ-1 в отношении клеток-предшественниц эритропоэза. Кроме того, эти же цитокины снижают экспрессию рецептора ЭПО, а также нарушают синтез ЭПО, тем самым ингибируя его активность. Эти процессы, происходящие на фоне ограниченной доступности железа для эритропоэза, приводят к ингибированию пролиферации эритроидных предшественников.

Белки острой фазы воспаления могут эффективно связывать ТФ и ингибировать опосредованный им захват железа эритроидными предшественниками. Таким образом, блокируется их пролиферация и дифференцировка. Кроме того, у больных АХЗ может развиваться дефицит витамина В₁₂ и фолиевой кислоты, что приводит к нарушению пролиферации эритроидных предшественников. И наконец, у онкологических больных лучевое и химиотерапевтическое воздействия могут усиливать анемию посредством прямого токсического воздействия на костный мозг.

Уменьшение синтеза и биологической активности ЭПО

Это третий фактор развития АХЗ [1]. ЭПО оказывает центральное регулирующее влияние на пролиферацию эритроидных клеток.

Цитокины ИЛ-1 и ФНО- α прямо ингибируют продукцию ЭПО *in vitro*, что, вероятно, обусловлено образованием под их влиянием реактивных кислородных радикалов.

Ответ эритроидных предшественников на ЭПО обратно пропорционален степени тяжести хронического заболевания и количеству циркулирующих цитокинов: при высокой концентрации ИФН- γ и ФНО- α требуется значительно больше ЭПО, чтобы восстановить формирование эритроидных колониеобразующих единиц.

У больных с воспалительными реакциями выработка ЭПО снижается в соответствии с выраженностью анемии, и его концентрация оказывается недостаточной для поддержания нормального уровня Hb [6].

После связывания с рецептором ЭПО активирует гены семейств сигнальных трансдукторов и активаторов транскрипции. При АХЗ эти процессы повреждаются и регулируются воспалительными цитокинами по принципу отрицательной обратной связи [1].

Диагностика

Обычно АХЗ — умеренная нормохромная и нормоцитарная, выраженность которой невелика. Уровень Hb редко снижается до менее 70 г/л.

Основа диагностики — наличие у пациента длительно текущего хронического заболевания. Как уже отмечалось, обычно его природа опухолевая, инфекционно-воспалительная или аутоиммунная. Если «фоновое» заболевание отсутствует, то диагноз АХЗ маловероятен [1].

Клинические проявления АХЗ во многом зависят от заболевания, с которым она ассоциирована [6]. Наблюдается прямая связь между степенью АХЗ и тяжестью основного заболевания [6,7]. Анемизация усиливает клинические проявления при поражении артерий, снабжающих головной мозг и нижние конечности, усугубляет сердечную недостаточность, при заболеваниях легких анемия обостряет гипоксический синдром.

При умеренной и легкой степени тяжести первичных заболеваний концентрация Hb обычно составляет 100–110 г/л, при тяжелых может снижаться до 80–90 г/л и ниже. Если степень снижения концентрации Hb не соответствует тяжести первичного заболевания,

необходимо искать другую (специфическую) причину анемии, в первую очередь кровотечения и гемолиз [7].

Достаточно часто приходится проводить дифференциальную диагностику АХЗ и ЖДА. Диагноз основан на отличиях в гомеостазе железа. Диагностика АХЗ требует оценки состояния обмена железа. Как правило, адекватно оценить запасы железа в организме можно, ориентируясь на уровень сывороточного ферритина [1]. Уровень ферритина прямо пропорционален накоплению железа в макрофагах и гепатоцитах, если при этом нет инфекции или воспалительного процесса. Его снижение имеет 100 % специфичность в отношении выявления железодефицитных состояний [7]. В то же время уровень ферритина может быть нормальным или даже повышенным у больных АХЗ. Причиной этого служат два обстоятельства: 1. повышенный уровень ферритина отражает запасы железа ретикуло-эндотелиальной системы; 2. повышенная экспрессия ферритина может быть индуцирована воспалением, поскольку он относится к провоспалительным цитокинам.

Иными словами, уровень ферритина не отражает запасы железа у пациентов с воспалительными процессами так, как это происходит у лиц без воспаления. Что касается опухолевых и аутоиммунных заболеваний, то обычно здесь также присутствует воспалительный компонент.

Концентрация сывороточного железа и насыщение ТФ могут быть снижены как при ЖДА, так и при АХЗ и не играют большой роли в дифференциальной диагностике между ними. Напротив, концентрация ТФ, нормальная или низкая у больных АХЗ, бывает значительно повышена у больных ЖДА. Повышен и уровень РРТФ, когда доступность железа для гемопоэза снижена, т. е. у больных ЖДА. И наоборот, уровень РРТФ у больных АХЗ близок к нормальным значениям [1].

Кратковременная ферротерапия (~ 10 дней) может быть использована как тест на определение характера анемии. При ЖДА она приводит к повышению уровня Hb на 25–30 г/л, при АХЗ — только к незначительному его повышению [6].

Когда диагноз АХЗ установлен или предполагается с высокой степенью вероятности, ключевым вопросом служит определение типа дефицита железа: является ли он абсолютным (истинным) или функциональным.

Принципиальная разница между ними состоит в том, что при абсолютном дефиците железа его назначение приводит к быстрому потреблению эритроидными клетками-предшественницами и активации эритропоэза, компенсируя тем самым анемию. В то же время у пациентов с функциональным дефицитом железа такое назначение будет бесполезным, несмотря на то, что имеются признаки нехватки железа.

В этом случае важную роль играет тщательный сбор анамнеза. АХЗ с абсолютным дефицитом железа обнаруживается у больных с потерей крови из-за гастроинтестинальных и урологических опухолей, маточных кровотечений, воспалительных заболеваний кишечника и гастроинтестинальных инфекций. Признаки кровопотери могут быть заподозрены уже при подробном расспросе больного или его родственников. Назначенное с целью верификации хронической кровопотери обследование может помочь в этом.

Лабораторными признаками АХЗ с абсолютным дефицитом железа служат (в порядке значимости): 1. Высокий уровень РРТФ. 2. Сниженное насыщение ТФ железом. 3. Увеличение количества ТФ. 4. Уменьшение количества железа и ферритина сыворотки.

Определение соотношения уровня РРТФ к логарифму уровня ферритина может помочь установить потребность в железе для эритропоэза. Соотношение менее 1 наблюдается при АХЗ с функциональным дефицитом железа, в то же время соотношение более 3 указывает на абсолютный дефицит железа.

Исследование количества гипохромных эритроцитов и, что еще более важно, гипохромных ретикулоцитов может быть полезно для определения доступности железа клеткам эритропоэза. Повышенное их количество свидетельствует о недостатке железа, а значит, эритроцит работает в условиях его дефицита. На это может указывать также снижение среднего содержания Hb в одном эритроците (MCH) и среднего объема эритроцита (MCV). Важный признак истинного дефицита железа — уменьшение количества железосодержащих гранул в эритроидных клетках-предшественниках костного мозга при специальной окраске (по Перлсу) [1].

Несмотря на потенциал ГП в диагностике заболеваний, вызванных нарушениями обмена железа, в настоящее время доступные анализы на ГП используются только в науч-

но-исследовательских целях. Несколько иммунологических и масс-спектрометрических методов анализа продемонстрировали достоверное измерение ГП в сыворотке крови, плазме и моче. Иммунологические анализы на ГП, такие как ELISA (от англ. «Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay» — твердофазный иммуноферментный анализ), могут быть более подходящими для крупномасштабного количественного анализа благодаря своей высокой производительности и относительно низкой стоимости по сравнению с масс-спектрометрическими методами анализа. Однако большинство иммунологических методов анализа определяют общее количество ГП, не различая биоактивный ГП полной длины (гепсидин-25) от меньших по длине изоформ (гепсидин-20, -22, -24). Полагают, что эти изоформы возникают в связи с деградацией ГП полной длины в кровотоке и их концентрация может быть выше при хронической болезни почек (ХБП), где клиренс ГП нарушен. Расщепление ГП может также произойти во время хранения образца при комнатной температуре. Остается неясным, будет ли важно для диагностики заболеваний, вызванных нарушениями обмена железа, измерение отдельных изоформ ГП.

Центральная роль ГП в патогенезе многих заболеваний, вызванных нарушениями обмена железа, предполагает, что анализы на ГП должны стать полезным инструментом для диагностики и клинического ведения этих заболеваний [4]. Весьма вероятно, что в недалеком будущем в установлении диагноза АХЗ с истинным дефицитом железа важную роль будет играть определение уровня ГП. При высоком уровне можно будет предполагать, что имеется нехватка железа и эритропоэз работает в условиях его дефицита [1].

Лечение

Успешное лечение основного заболевания, обусловившего развитие анемии, как правило, позволяет нормализовать имеющиеся гематологические нарушения. Если эффективное лечение основного заболевания невозможно, используют терапию, направленную на коррекцию анемии [8].

В лечении АХЗ можно выделить три основных направления: 1. Переливание компонен-

тов крови. 2. Назначение препаратов железа 3. Применение стимуляторов эритропоэза [1].

Переливание компонентов крови

Это широко распространенное вмешательство, дающее быстрый эффект. Переливание эритроцитарной массы или отмытых эритроцитов абсолютно показаны пациентам с угрожающей жизни анемией (Hb менее 65 г/л). Трансфузии эритроцитов при АХЗ могут применяться у больных с выраженной анемией (Hb менее 80 г/л), если она осложнена острой кровопотерей [1]. При хронической анемии нет необходимости в проведении гемотрансфузий даже в случаях тяжелой анемии, поскольку она развивается постепенно, и пациент адаптируется к ней. Трансфузии оправданы при угрожающем жизни состоянии, наличии выраженных симптомов со стороны сердечно-сосудистой и легочной систем (тахикардия, одышка), затрудняющих повседневную жизнь пациента. Однократно переливается 2–4 Ед эритроцитарной массы. Не следует стремиться быстро скорригировать тяжелую анемию, так как при этом возникает риск последующей гиперволемии и сердечной недостаточности [7].

Основываясь на доступных данных, крайне сложно определить влияние трансфузий на результат лечения больных АХЗ, а также на течение основного заболевания [1].

Назначение препаратов железа

Мнения о целесообразности терапии железом больных АХЗ неоднозначны. Одним из аргументов против такой терапии при АХЗ служит тот факт, что размножающиеся микроорганизмы и опухолевые клетки могут использовать поступающее железо для своей жизнедеятельности. Кроме того, терапия железом в условиях длительной иммунной активации способствует образованию высокотоксичных гидроксильных радикалов, которые могут вызывать повреждение тканей и приводить к эндотелиальной дисфункции, повышая риск сердечно-сосудистых заболеваний [6].

Терапия железом не рекомендуется у пациентов с АХЗ без дефицита железа при высоком или нормальном уровне ферритина

(> 200 мкг/л) из-за риска развития побочных эффектов и перегрузки железом [7].

Железо обязательно должно включаться в терапию АХЗ с признаками абсолютного дефицита железа [1]. Препараты железа рекомендуется назначать преимущественно парентерально, поскольку всасывание железа из 12-перстной кишки при АХЗ подавлено ГП [6,7]. Парентеральное введение железа усиливает ответ на ЭПО. При этом введение железа не сопровождается инфекционными осложнениями, поскольку в данном случае оно, по-видимому, потребляется в большей степени эритроцитарным ростком, чем микробными агентами [7].

Применение стимуляторов эритропоэза

У больных с АХЗ обосновано применение агентов, усиливающих эритропоэз — в частности рекомбинантного ЭПО [7]. Патогенетический эффект ЭПО заключается в противодействии антипролиферативному влиянию цитокинов, стимуляции захвата железа и синтеза гема в эритроидных предшественниках [6,7].

Показанием к терапии ЭПО у пациента с АХЗ следует считать уровень Hb менее 100 г/л, и почти всегда требуется лечение ЭПО, если уровень Hb ниже 80 г/л. ЭПО вводят в дозе 10 000 МЕ 3 раза в неделю или 30 000–40 000 МЕ 1 раз в неделю. Это обычно соответствует дозе 100–200 МЕ/кг на введение. Дарбэпоэтин-α вводится в дозе 150 мкг 1 раз в неделю или 500 мкг 1 раз в 3 недели. Более подходящим считается подкожное введение ЭПО, так как оно имеет предпочтительную фармакокинетику [1,2].

Клинический эффект терапии ЭПО проявляется в коррекции анемии и снижении потребности в переливаниях крови [6]. Скорость ответной реакции на терапию ЭПО у больных АХЗ широко варьирует, однако имеется четкий дозозависимый эффект. Продолжительность лечения имеет особое значение. Не стоит ожидать значимого клинического эффекта раньше, чем через 4 недели от начала лечения, обычно он наступает через 6 недель. Это обусловлено тем, что восстановление эритроидного ростка костного мозга в ответ на ЭПО происходит постепенно и достигает максимальной активности только после нескольких недель.

Особое значение имеет целевой уровень Hb. Большинство экспертов считают целевым уровень 110 г/л. Он является оптимальным, так как позволяет избежать неконтролируемого роста уровня Hb, продолжающегося после отмены ЭПО [1].

В случае гиперкоагуляционного синдрома, развивающегося при анемиях на фоне злокачественных, сердечно-сосудистых, инфекционных заболеваний и особенно при восстановлении уровня Hb на фоне противоанемической терапии, показано применение средств дезагрегантного действия: малых доз аспирина, плавикса, тиклида и при показаниях — трансфузий свежезамороженной плазмы под контролем коагулограммы [7].

Несколько стратегий противодействия влиянию ГП при АХЗ находятся в стадии разработки (таблица 1). Они включают супрессоры производства ГП, вещества, его нейтрализующие и вещества, препятствующие его соединению с ферропортином [4].

Таблица 1

Планирование терапевтических подходов для регуляции уровня ГП [3]

Терапевтический подход	Целевые заболевания	Способ действия	Агенты
Антагонисты гепсидина	Анемии хронических заболеваний	Супрессоры производства гепсидина	Противовоспалительные препараты
			Стимуляторы эритропоэза
			Ген, подавляющий гепсидин, и его регуляторы
		Вещества, нейтрализующие пептид гепсидина	Антигепсидиновые антитела
			Антикалины*
			Спигелмеры**
Вещества, препятствующие соединению гепсидина с ферропортином	Антиферропортиновые антитела		
	Тиоловые модификаторы		

*Антикалины — это искусственные белки, которые способны связываться с антигенами, либо с белками и молекулами малых размеров. Они используются вместо моноклональных антител. В отличие от антител, антикалины в 8 раз меньше размером, состоят из примерно 180 аминокислот, что позволяет им проникать в межклеточное пространство тканей и связываться с молекулами малых размеров. Также в отличие от антител, они устойчивы при температурах до 70°C и могут быть получены от бактерий, таких как *E.coli*, в больших количествах [9].

** Спигелмеры (L-РНК аптамер, от нем. «Spiegel»-зеркало) — это искусственные олигонуклеотиды, названные так из-за того, что являясь зеркальным отражением природных олигонуклеотидов. Они обладают высокой устойчивостью к разложению нуклеаз. Спигелмеры способны связывать молекулы, такие как пептиды, белки и вещества с низкой молекулярной массой, таким образом, по механизму действия они сходны с антителами. Сами спигелмеры имеют низкую антигенность. Они имеют высокую устойчивость в сыворотке крови, так как менее подвержены расщеплению гидролитическими ферментами, а также быстро выводятся из организма почками из-за своей низкой молекулярной массы. В настоящее

время спигелмеры проходят клинические испытания [10].

Выводы:

1. АХЗ — сложный в патогенетическом отношении компонент ответа организма на длительно протекающий опухолевый, инфекционный, воспалительный или аутоиммунный процесс.
2. АХЗ является следствием искаженного обмена железа, сниженного ответа на эритропоэтин (ЭПО) и значительной активности про- и противовоспалительных цитокинов.
3. Роль универсального гуморального регулятора метаболизма железа выполняет пептид ГП, который ингибирует высвобождение железа в плазму.
4. При длительно протекающих опухолевых, инфекционных, воспалительных или аутоиммунных процессах имеет место перепроизводство ГП, что приводит к гипоферремии, железодефицитному эритропоэзу и, как следствие, к АХЗ.
5. Успешное лечение основного заболевания, обусловившего развитие анемии, как правило, позволяет нормализовать имеющиеся гематологические нарушения. Если эффективное лечение основного заболевания невозможно, используют терапию, направленную на коррекцию анемии.

Литература

1. Рукавицын О. А. Актуальные вопросы диагностики и лечения анемии при хронических заболеваниях // Клиническая онкогематология, 2012. Т. 5, N 4. С. 296–304.
2. Шамов И. А., Гасанова П. О. Железо, абсорбция, транспорт // Вестник гематологии (СПб) 2016.
3. Романенко Н. А. Анемия у больных онкогематологическими заболеваниями: особенности патогенеза, методы коррекции, качество жизни. — дисс... докт. мед. наук. СПб., 2015.
4. Arezes J., Nemeth E. Hepcidin and iron disorders: new biology and clinical approaches // International Journal of Laboratory Hematology. 2015. 37(Suppl.1). P. 92–98.
5. Левина А. А., Казюкова Т. В., Цветаева Н. В. и др. Гепсидин как регулятор гомеостаза железа // Педиатрия. 2008. Т. 87, N 1. С. 67–74.
6. Охотникова Е. Н., Поночевная Е. В. Анемия при хронических заболеваниях // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. 2012. N5/6. С. 22–24.
7. Андреичев Н. А., Балеева Л. В. Анемия хронических заболеваний // Российский медицинский журнал. 2014. N 2. С. 50–55.
8. Ватутин Н. Т., Калинкина Н. В., Смирнова А. С. Анемия хронического заболевания // Вестник Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина. 2009. N879. С. 40–48.
9. Интернет-сайт: <https://www.en.m.wikipedia.org/wiki/Anticalin>.
10. Интернет-сайт: https://www.en.m.wikipedia.org/wiki/L-Ribonucleic_acid_aptamer.

Бессмельцев С. С., Киселева Е. А., Замотина Т. Б., Чечеткин А. В.

ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России»

РАЗВИТИЕ МЕТОДОВ ЭФФЕРЕНТНОЙ ТЕРАПИИ В РОССИЙСКОМ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОМ ИНСТИТУТЕ ГЕМАТОЛОГИИ И ТРАНСФУЗИОЛОГИИ

Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии организован приказом по Ленгорздравотделу в 1932 году как научно-практический институт переливания крови. С самого начала в институте активно разрабатывалась проблема фракционирования крови и гемокомпонентной терапии. Впервые были изучены и внедрены в практику методы лечения обменными гемотрансфузиями гемолитической болезни новорожденных.

В 1945 г. была создана гематологическая клиника. Основным разделом деятельности гематологической клиники стало изучение этиологии и патогенеза, разработка методов диагностики и лечения злокачественных новообразований лимфоидной, кроветворной и родственных им тканей.

Одним из важных направлений научной и практической деятельности гематологической клиники всегда была разработка методов сопроводительной терапии (терапии «поддержки»), которая является неотъемлемой частью лечения больных различными заболеваниями системы крови. Она проводится для улучшения качества их жизни, снижения страданий, предупреждения и лечения, развивающихся осложнений, которые обусловлены, прежде всего: особенностями течения патологического процесса; синдромом лизиса опухолевых клеток и нарушением питания; наличием лихорадки; возникновением инфекционных осложнений; геморрагическим синдромом; развитием миелодепрессии, электролитных нарушений; поражением внутренних органов. Сопроводительная терапия, как показали исследования сотрудников клиники, включает инфузионно-детоксикационную терапию, гемокомпонентную и противорвотную терапию, гемо- и плазмосорбцию, плазма- и цитаферез, препараты, купирующие оссалгический синдром и нормализующие фосфорно-кальциевый обмен, борьбу с инфекционными осложнениями и цитостатической кардиомиопатией, колониестимулирующие факторы (КСФ) и т. д.

Инфузионно-детоксикационная терапия — это один из компонентов сопроводительной терапии больных гемобластозами. Исследованиями ученых института было показано, что успех лечения больных в значительной степени связан с возможностями эфферентных методов, включаемых в комплекс сопроводительной терапии. Задачи эфферентной терапии — «разгрузить» органы и системы естественной детоксикации, находящиеся в состоянии напряжения, предотвращая их декомпенсацию и развитие полиорганной несостоятельности, а при развитии декомпенсации — помочь организму «пережить кризис». При недостаточной эффективности инфузионной терапии применяют методы экстракорпоральной гемокоррекции — трансфузиологические операции направленного количественного и качественного изменения клеточного, белкового, водно-электролитного, ферментного, газового состава крови во внеорганизменном перфузионном контуре кровообращения. Выделяют 3 основные группы таких методов: 1) сорбционные (гемосорбция, плазмосорбция, иммуносорбция, энтеросорбция); 2) аферезные (плазмаферез, криоаферез, тромбо-, лейко-, лимфо-, эритроцитаферез, бластаферез); 3) другие методы (фотогемотерапия — ультрафиолетовое, лазерное облучение аутокрови, омагничивание аутокрови; экстракорпоральная иммунофармакотерапия, малопоточная мембранная оксигенация крови).

В целях развития методов экстракорпоральной гемокоррекции в 1988 г. был организован Республиканский центр гравитационной хирургии крови (РЦГХК) на базе Ленинградского НИИ гематологии и переливания крови в соответствии с приказом Минздрава РСФСР № 820 от 14.11.1986 г. «О мерах по внедрению в практику метода гравитационной хирургии крови». Еще в конце 70-х годов 20 века были разработаны режимы прерывистого интенсивного плазмолейкоцитафереза для кадровых доноров, предложено сочетанное донорство двух гемокомпонентов (плаз-

мы и лейкоцези), разработан режим интенсивного прерывистого ПА, получены новые данные о влиянии интенсивных режимов плазмалеукоцитазереза на организм доноров [1]. Впервые в комплексе лечебных мероприятий при гнойно-септических заболеваниях стафилококковой этиологии применены лейкоцези, полученные из крови доноров, иммунизированных стафилококковым анатоксином [2]. Проводимые исследования показали, что интенсивный плазмалеукоцитазерез вызывает эффект стимуляции выброса зрелых лейкоцитов в систему циркуляции крови, а так же приводит к активации системы гемостаза. Результаты исследований легли в основу разработки методики лечебного плазмалеукоцитазереза. Ряд методов инфузионно-детоксикационной терапии (гемосорбция, плазмосорбция, лечебный плазмалеукоцитазерез, парентеральное питание) при гемобластозах были предложены и использованы в институте впервые в стране.

Теоретически обоснована и практически показана возможность и целесообразность применения метода парентерального питания при различных формах лейкозов. Было установлено, что основной целью парентерального питания является улучшение состояния питания организма больных, обеспечение биосинтеза белка, удовлетворение энергетических потребностей, а также потребностей в электролитах, микроэлементах, витаминах, уменьшении степени побочных эффектов химиотерапии, стимуляции гемопоза в период цитостатической миелодепрессии [3].

По инициативе профессора Абдулкадырова К. М., начиная с 80-х годов 20 столетия, проводились исследования по использованию в лечении гематологических больных гемосорбции и плазмосорбции [4]. Установлено, что гемосорбцию следует применять при тяжелой и крайне тяжелой степени интоксикации, при которой наблюдается образование большого количества биологически активных веществ и токсичных пептидов, вступающих в комплексные соединения с белками крови и форменными элементами, которые не могут быть удалены с помощью только инфузионной терапии. Влияние гемосорбции проявляется положительной динамикой клинических признаков токсемии: уменьшением болей в мышцах и костях, прекращением тошноты и рвоты, восстановлением сна

и аппетита, снижением температуры тела. Улучшается функция почек, печени, что выражается в нормализации содержания креатинина, фильтрационной и реабсорбционной способности почек, белоксинтезирующей функции печени. Основными показаниями к гемосорбции являются нарушение функции почек и печени, сепсис, неэффективность инфузионной терапии. Противопоказания: ДВС-синдром, геморрагический синдром любой локализации, врожденные и приобретенные геморрагические диатезы, острая сердечно-сосудистая недостаточность, гипотензия (систолическое артериальное давление ниже 80 мм рт. ст.).

Эффективно проведение плазмосорбции, при которой отделенная от форменных элементов крови плазма пропускается через колонки с гемосорбентом, а затем, соединяясь с форменными элементами в аппарате, возвращается в кровяное русло больного. Плазмосорбция обеспечивает высокую степень очистки плазмы крови и низкую реактогенность при реинфузии больному. У больных на фоне плазмосорбции наблюдалось прекращение тошноты, уменьшение общей слабости, потливости, снижение содержания креатинина, общего билирубина в крови и концентрации АЛАТ. Отмечалось понижение уровня общего белка, парапротеина и вязкости крови. Снижение концентрации парапротеина свидетельствует о том, что происходит неспецифическая сорбция парапротеинов шихтой сорбентов, так же как и азотистых шлаков при их избыточном накоплении.

В период 1991–2004 гг. исследовалась эффективность лечебного плазмалеукоцитазереза (ПА) в комплексной терапии больных множественной миеломой (ММ). Установлено, что лечебный плазмалеукоцитазерез позволяет быстро удалять патологические белки и лейкозные клетки, способствуя улучшению морфологического состава крови, ее реологических свойств и электролитного состава, и сопровождается выраженным детоксикационным эффектом. Разработаны методики, которые были внедрены в практику работы гематологических отделений многих лечебных учреждений. Показано, что воздействие ПА на организм больного определяется следующими факторами: 1) гемоэкспузией и реакцией на нее сердечно-сосудистой, других систем организма и компенсаторной гемодилюцией; 2) удалением плазмы со всеми ее компонен-

тами, включая патогенные агенты (токсины, антитела, ЦИК, парапротеины и т. д.), а также нормальные белки, гормоны, витамины, ферменты, регуляторные пептиды и другие биологически активные вещества; 3) изменениями состава и свойств циркулирующей крови при введении с целью плазмозамещения различных гемокорректоров, донорской плазмы, модифицированной аутоплазмы, а также различных лекарственных веществ (гепарина, антиагрегантов и др.). Проведение ПА сопровождалось целым комплексом разнообразных эффектов. Наиболее важным из них является улучшение реологических свойств крови, обусловленное как снижением содержания патологического белка и фибриногена в крови больных ММ, уменьшением онкотического давления плазмы и вязкости крови, так и деплазмированием эритроцитов при осуществлении процедуры, что сопровождается деблокированием микроциркуляторного русла. Лечебный плазмаферез оказывает значительный иммунокорректирующий эффект путем снижения уровня ЦИК, ИЛ-2, увеличения абсолютного числа CD3+, повышения фагоцитарной активности нейтрофилов за счет отмывания мембран клеток, а также является самой мощной детоксикационной операцией. ПА эффективен при гипервискозном синдроме/гипервискозной коме, ДВС-синдроме с реологическими и гемокоагуляционными расстройствами, дисбалансе процессов иммунологической реактивности организма и повышении концентрации иммунных комплексов в крови. Лечебный ПА оказался достаточно эффективным способом лечения хронической сердечной и почечной недостаточности, а, вызывая повышение пролиферативной активности опухолевых клеток, способствовал преодолению химиорезистентности. За период с 1985 по 2005 год ПА был использован более чем у 400 больных ММ. Установлены показания для использования ПА: 1. Парапротеинемия и гипервискозный синдром, сопровождаемые гемокоагуляционными и реологическими расстройствами. 2. Хроническая сердечная недостаточность. 3. Хроническая почечная недостаточность. 4. Первичная или вторичная химиорезистентность. 5. Синдром эндогенной интоксикации.

Исследования показали, что больным ММ необходимо комплексное лечение, включающее не только химиотерапию, но и применение лечебного плазмафереза с одновре-

менным введением реологически активных растворов и инфузиями малых доз гепарина как метода, корригирующего клинические и лабораторные признаки гипервискозного синдрома, а также нарушения в системе гемокоагуляции и реологии крови, протекающие по типу ДВС-синдрома. Широкое распространение получили низкомолекулярные гепарины, которые, в отличие от нефракционированного гепарина, обладают более выраженным и длительным антитромбогенным действием при одновременно сниженном антикоагулянтном действии [5–11].

В 90-х годах стали все больше использовать и другие методы экстракорпоральной гемокоррекции, в частности эритроцитаферез. Этот метод получил развитие в лечении больных истинной полицитемией (ИП). На фоне применения эритроцитафереза у больных ИП наблюдалось заметное уменьшение массы циркулирующих эритроцитов, положительная динамика их реологических феноменов, нормализация кислородной функции крови и улучшение питания сердечной мышцы, активизируется сократительная функция миокарда, улучшается опорожнение левого желудочка в систолу. Даже у больных, перенесших инфаркт миокарда, отмечалась положительная динамика эхокардиографических показателей [12].

Современная терапия больных гемобластозами способствовала возрастанию количества полных клинико-гематологических ремиссий и увеличению продолжительности жизни. Однако интенсификация терапии значительно увеличила частоту инфекционных осложнений, обусловленных нарушением иммунного статуса больных, гранулоцитопенией, патологическими процессами в слизистых оболочках желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей, что значительно отягощало состояние больных и препятствовало проведению адекватной химиотерапии. Учеными института был предложен метод экстракорпоральной иммунокоррекции — облучение аутокрови ультрафиолетовыми лучами (АУФОК). Проводились исследования эффективности фотомодифицированной аутокрови у больных различными гематологическими заболеваниями с инфекционными осложнениями. Результаты исследований убедительно свидетельствовали, что применение указанного метода позволило значительно снизить частоту инфекционно-вос-

палительных осложнений у больных различными формами неходжкинских лимфом, хроническим лимфолейкозом, множественной миеломой, что способствовало проведению в полном объеме необходимого курса цитостатической терапии и повысило ее эффективность [13]. А проведение лечебного плазмафереза в сочетании с ультрафиолетовым облучением аутокрови значительно улучшало функцию печени при токсическом гепатите (снижалась активность АлАТ и АсАТ).

Кроме того, впервые было предложено использовать в комплексной терапии больных ММ экстракорпоральное омагничивание аутокрови постоянным магнитным полем (МОАК), которое производилось с помощью 2 специальных магнитных насадок [14–16]. Результаты исследований показали, что МОАК может быть с успехом применено для профилактики и лечения инфекционных и геморрагических осложнений, возникающих в процессе химиотерапии больных множественной миеломой, хроническим лимфолейкозом. Частота инфекционных осложнений у больных ММ при использовании этого метода снизилась с 48 % до 14 %.

Исследованиями, проводимыми сотрудниками института, было показано, что с целью профилактики дополнительной метаболической интоксикации до начала активной цитостатической терапии больных острыми и хроническими лейкозами с бластемией целесообразно проведение лейкоцитафере-

за и бластафереза. Показаниями к проведению такой процедуры является лейкоцитоз свыше $50-100 \times 10^9/\text{л}$, бластоз свыше 50 % (по данным периферической крови), интоксикация и резистентность к цитостатической терапии. Удаление из организма больного большого количества лейкозных клеток способствует активации костномозгового кроветворения, улучшению микроциркуляции, сокращению селезенки. При высоком уровне лейкоцитов $100-200 \times 10^9$ проводятся операции цитафереза аппаратным методом при помощи аппарата «Haemonetics MCS+» [17].

Патогенетически оправдано применение методов гемокоррекции в комплексном лечении больных апластической анемией с целью профилактики и купирования токсико-аллергических осложнений, которые часто возникают во время проведения курса лечения. У больных иммунной тромбоцитопенической пурпурой процедуры плазмафереза применялись с целью снижения титра аутоантител к тромбоцитам, особенно в период подготовки пациентов к проведению спленэктомии.

Таким образом, методы эфферентной терапии всегда занимали важное место в комплексном лечении больных различными заболеваниями системы крови. Целенаправленное и строго дифференцированное применение такой терапии позволяет значительно снизить частоту возникновения различных осложнений и тем самым усилить эффективность базисной терапии.

Литература

1. Мельникова В. Н., Волкова С. Д., Монахенко И. В. и соавт. Компенсаторно-регенераторные реакции у доноров при проведении интенсивного, прерывистого лейкоцитафереза и плазмафереза // Гравитационная хирургия крови, Москва. — 1983. — С. 173–174.
2. Мельникова В. Н., Волкова С. Д., Николаева Л. К. и соавт. Разработка метода получения взвесей лейкоцитов и тромбоцитов путем многократных плазмацитаферезов у доноров // Материалы Всесоюзной конференции по фракционированию крови. — М., 1981. — С. 54.
3. Панина А. Ю. Парентеральное питание у больных лейкозами: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — Л., 1989. — 22 с.
4. Абдулкадыров К. М., Шатров В. А., Ганапиев А. А. Методы сорбционной детоксикации и гравитационной хирургии в лечении системных заболеваний крови // Сорбционные методы детоксикации и иммунокоррекции в хирургии. — Ташкент, 1984. — С. 20–21.
5. Абдулкадыров К. М., Бессмельцев С. С., Любимова Н. Ю. Иммунологические и реологические нарушения у больных множественной миеломой // Тер. арх. — 1991. — № 7. — С. 122–126.

6. Бессмельцев С. С., Стельмашенко Л. В., Кацадзе Ю. Л. Влияние лечебного плазмафереза на изменение показателей системы гемостаза и реологии крови у больных множественной миеломой // Актуальные вопросы службы крови и трансфузиологии: Тез. докл. Российской конференции. — СПб., 1995. — С. 371–373.
7. Бессмельцев С. С., Абдулкадыров К. М., Кацадзе Ю. Л. Диагностика осложнений при множественной миеломе и методы их коррекции: Пособие для врачей. — СПб., 1997. — 17 с.
8. Абдулкадыров К. М., Бессмельцев С. С. Сравнительная оценка эффективности программ моно- и полихимиотерапии больных множественной миеломой // Клини. мед. — 1992. — № 9–10. — С. 57–60.
9. Бессмельцев С. С., Абдулкадыров К. М., Замотина Т. Б. Лечебный плазмаферез в лечении больных с множественной миеломой // Эфферентная терапия. — 2001. — № 3. — С. 34–43.
10. Бессмельцев С. С., Абдулкадыров К. М. Множественная миелома. — СПб.: «Диалект», 2004. — 448 с.
11. Bessmeltsev S. S., Katsadze Yu. L., Abdulkadyrov K. M. Effect of plasmapheresis on blood rheology and hemostasis of patients with multiple myeloma (MM) // International Society of Blood Transfusion: V Regional (IV European) Congress. — Venezia (Italy), 1995. — P. 289 (Abstr. 387).
12. Бессмельцев С. С., Замотина Т. Б. Влияние эритроцитафереза на состояние левых отделов сердца у больных истинной полицитемией по данным эхокардиографии // Клиническая медицина. — 1995. — № 4 — С. 80–82.
13. Абдулкадыров К. М., Бессмельцев С. С., Бельченко Н. А., Балашова В. А. Применение ауто-трансфузий фотомодифицированной крови в комплексном лечении гематологических больных // Терапевтический архив. — 1992. — 12. — С. 51–55.
14. Бессмельцев С. С., Балашова В. А., Абдулкадыров К. М. Влияние *in vitro* постоянного и импульсного магнитного поля на колониобразующую способность клеток костного мозга гематологических больных // Вопр. Онкол. — 1998. — № 3. — С. 310–315.
15. Бессмельцев С. С., Абдулкадыров К. М., Кацадзе Ю. Л., Гончар В. А., Волкова С. Д., Замотина Т. Б. Применение омагниченной аутокрови в терапии больных с множественной миеломой // Эфферентная терапия. — 1999. — № 1. — С. 34–40.
16. Бессмельцев С. С., Балашова В. А. Воздействие *in vitro* постоянного и переменного магнитного поля и цитозара на колонии — и кластерообразующие свойства клеток костного мозга гематологических больных // Врачебное дело. — 2000. — № 2. — С. 44–50.
17. Абдулкадыров К. М., Бессмельцев С. С., Рукавицын О. А. Лечение хронического миелолейкоза. — СПб.: Издательство «ЛЕКА», 1999. — 152 с.

**ПЛАН
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ
В ФГБУ «РОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ГЕМАТОЛОГИИ И ТРАНСФУЗИОЛОГИИ ФЕДЕРАЛЬНОГО
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА»
НА 2017 ГОД**

1 № п/п	2 Вид и тип мероприятия	3 Наименование мероприятия	4 Место проведения, организация, ответственная за проведение (индекс, почтовый адрес, телефон, факс, e-mail)	5 Дата проведения (число, месяц, кол-во дней)	6 Количество участников	
					Всего	В т. ч. иностранцев
1	Конференция	Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Генетика опухолей кроветворной системы»	ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, 191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16 телефон: (812) 274-56-50, факс: (812) 717-25-50, e-mail: bloodscience@mail.ru	13-14 апреля 2 дня	250	150
2	Конференция	Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии», посвященная 85-летию Российского научно-исследовательского института гематологии и трансфузиологии	ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, 191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16 телефон: (812) 274-56-50, факс: (812) 717-25-50, e-mail: bloodscience@mail.ru	06-07 июня 2 дня	300	250

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

Журнал «Вестник гематологии» публикует статьи по всем проблемам гематологии, а также по смежным проблемам с другими медицинскими специальностями. Публикуются передовые и оригинальные статьи, краткие сообщения, заметки из практики, лекции, обзоры, письма в редакцию. Все представляемые материалы рецензируются и обсуждаются редакционной коллегией.

Общие правила. Рукопись статьи должна быть представлена в одном экземпляре, напечатанном 12 шрифтом через 2 интервала на одной стороне белой бумаги размером А4 с полями 2,5 см по обе стороны текста. Рукопись оригинальной статьи должна включать: 1) резюме; 2) ключевые слова (**всё — на русском и английском языках**); 3) введение; 4) материалы и методы; 5) результаты; 6) обсуждение; 7) таблицы; 8) иллюстрации и подписи к ним (таблицы и иллюстрации с подписями располагаются непосредственно по тексту); 9) библиографию. Статья должна иметь визу руководителя отдела (кафедры, лаборатории), из которого выходит статья и печать данного учреждения. Первый лист статьи должен содержать: 1) название статьи; 2) фамилии и инициалы авторов; 3) полное название учреждения, в котором выполнялась работа (**всё — на русском и английском языках**). Объем оригинальной статьи, как правило, не должен превышать 10–12 машинописных страниц, кратких сообщений и заметок из практики — 4–6 страниц, лекций и обзоров — 15 страниц. На последней странице необходимы подписи всех авторов, а также фамилия, имя, отчество, почтовый адрес, номер телефона (желательно факса и e-mail) автора, ответственного за контакты с редакцией. **Все элементы рукописи должны находиться в одном файле.**

Резюме (на русском и английском языках) печатается на отдельной странице. Объем резюме должен быть не более 200–250 слов. На этой же странице помещаются «ключевые слова» (от 3 до 6 слов на русском и английском языках).

Иллюстрации (рисунки, диаграммы, фотографии в черно-белом изображении) располагаются согласно их упоминанию в тексте. Подписи к иллюстрациям печатаются непосредственно под ними с нумерацией арабскими цифрами соответственно номерам рисунков. В подписях к микрофотографиям надо указывать степень увеличения.

Список литературы печатается на отдельном(-ых) листе(-ах). Все работы перечисляются в порядке цитирования (ссылок на них в тексте), а не по алфавиту фамилий первых авторов. Библиографические ссылки даются арабскими цифрами в квадратных скобках. При упоминании отдельных фамилий авторов в тексте им должны предшествовать инициалы (фамилии иностранных авторов приводятся в оригинальной транскрипции). Порядок составления списка следующий: а) автор(-ы) книги или статьи; б) название книги или статьи; в) выходные данные. При авторском коллективе до 4-х человек включительно упоминаются все авторы (с инициалами после фамилий), при больших авторских коллективах упоминаются три первых автора и добавляется «и др.» (в иностранной литературе «et al.»). В списке цитируемой литературы указываются: а) для книг — фамилия и инициалы автора, полное название работы, место и год издания; б) для журнальных статей — фамилии и инициалы авторов, название журнала, год, номер, страницы «от» и «до»; в) для авторефератов диссертаций — фамилии и инициалы автора, докторская или кандидатская, полное название работы, год, место издания.

Статью в электронном виде отправлять
ответственному секретарю журнала Глазановой Т. В.
по адресу: tatyana-glazanova@yandex.ru
с пометкой «Вестник Гематологии».

ПРИМЕР 1:

1. *Абдулкадыров К. М., Бессмельцев С. С., Рукавицын О. А.* Хронический миелолейкоз. СПб.: Специальная литература, 1998.
2. *Поддубная И. В.* Неходжкинские лимфомы. // Клиническая онкогематология / Под ред. М. А. Волковой. М., 2001. С. 336–375.
3. *Бессмельцев С. С., Абдулкадыров К. М.* Бисфосфонаты в лечении больных множественной миеломой. // Проблемы гематологии и переливания крови. 2002. № 3. С. 23–32.
4. *Osterman B., Cavallin-Stahl E., Hagberg H. et al.* High-grade non-Hodgkin's lymphoma stage I. A retrospective study of treatment, outcome and prognostic factors in 213 patients // Acta Oncol. 1996. Vol. 35. P. 171–177.
5. *Perrone A., Deramo M. T., Spaccavento F.* Hepatitis C virus (HCV) genotypes, human leucocyte antigen expression and monoclonal gammopathy prevalence during chronic HCV infection // Cytobios. 2001. Vol. 106. Suppl 1. P. 125–134.
6. *Бессмельцев С. С.* Роль эритроцитов в изменениях реологических и коагуляционных свойств крови при некоторых гематологических заболеваниях: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Л., 1988.

ПРИМЕР 2:

Абдулкадыров К. М., Шилова Е. Р.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ АПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИЕЙ

Резюме. *В лечении апластической анемии ...*

Ключевые слова: *апластическая анемия, ...*

Abdulkadyrov K. M., Shilova E. R.

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St. Petersburg

**MODERN THERAPEUTIC POSSIBILITIES FOR TREATMENT
OF PATIENTS WITH APLASTIC ANEMIA**

Abstract. *Aplastic anemia ...*

Key words: *aplastic anemia, ...*

Редколлегия оставляет за собой право сокращать и редактировать статьи.
Статьи, оформленные не в соответствии с указанными правилами,
не принимаются и авторам не возвращаются.

ДЛЯ ЗАМЕТОК
