



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.10.4.006>
УДК [616.41-018.4:616.419]-089. 843-053.2:612.115



Дмитриев В.В.✉, Какунин А.М., Минаковская Н.В., Прудников Д.В., Кирсанова Н.П.,
Марейко Ю.Е., Наумович М.Г., Янушкевич П.Г., Жерко Л.В., Борисенко М.Б., Мычкова Г.Н.
Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии
и иммунологии, Минск, Беларусь

Свертывание крови в динамике аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток костного мозга у детей

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн – Дмитриев В.В.; исследование свертывания крови – Борисенко М.Б.; исследование антикоагулянтной активности – Мычкова Г.Н.; выполнение процедуры введения мезенхимальных стволовых клеток, лечение пациентов, забор анализов – Минаковская Н.В., Прудников Д.В., Кирсанова Н.П., Марейко Ю.Е., Наумович М.Г., Янушкевич П.Г., Жерко Л.В.; клиническая характеристика пациентов – Минаковская Н.В., Прудников Д.В.; анализ и интерпретация осложнений ТГСК – Какунин А.М.; анализ и интерпретация результатов – Дмитриев В.В.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Подана: 20.08.2024

Принята: 18.10.2024

Контакты: dmitrievhaematol@mail.ru

Резюме

Цель. Изучить изменения свертывания крови в динамике аллогенной трансплантации гемопоэтических клеток костного мозга у детей.

Материалы и методы. В исследование включены 28 пациентов в возрасте 9,0 (1,0–20,0) года, находившихся на лечении по поводу гемобластозов. Мальчиков – 21, девочек – 7.

Результаты. Накануне кондиционирования у обследованных пациентов зарегистрировано состояние нормокоагуляции. После алло-ТГСК отмечен рост активности и содержания фактора Виллебранда в сочетании с повышением активности фактора VIII. Наличие корреляционной связи между повышением активности фактора VIII и активностью протеина С и протеина S указывало на контролируемую естественными антикоагулянтами гиперкоагуляцию. На день констатации события (острая РТПХ, СОС, ТА-ТМА) выявлено запредельно высокое содержание 163,0 (99,0–237,0)% и активность 227,0 (142,0–340,0)% фактора Виллебранда. Повышение активности фактора VIII свыше 200% не зависело от содержания фактора Виллебранда, что в сочетании со снижением активности протеина S способствовало не контролируемой ингибиторами гиперкоагуляции.

Заключение. Изменения свертывания крови в динамике ТГСК носили вторичный характер и отражали эндотелиальную дисфункцию, возникшую в результате действия повреждающего агента.

Преимущественный рост содержания и активности фактора Виллебранда, активности фактора VIII на фоне изменения активности протеина С и снижения активности протеина S может быть использован в качестве предиктора эндотелиальной дисфункции, независимо от особенностей повреждающего агента.

Ключевые слова: гемобластозы, дети, костный мозг, гемопоэтические стволовые клетки, трансплантация, свертывание крови

Dmitriev V. ✉, Kakunin A., Minakovskaya N., Prudnikau D., Kirsanova N., Mareika Y.,
Naumovich M., Yanushkevich P., Zherko L., Borisenok M., Michkova G.
Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology
and Immunology, Minsk, Belarus

Blood Clotting in the Dynamics of Allogeneic Transplantation of Hemopoietic Bone Marrow Stem Cells in Children

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design – Dmitriev V.; blood coagulation study – Borisenok M.; anticoagulant activity study – Michkova G.; mesenchymal stem cell injection procedure, patient treatment, sampling – Minakovskaya N., Prudnikau D., Kirsanova N., Mareika Y., Naumovich M., Yanushkevich P., Zherko L.; clinical characteristics of patients – Minakovskaya N., Prudnikau D.; analysis and interpretation of complications of HSCT – Kakunin A.; analysis and interpretation of results – Dmitriev V.

Funding: the study had no sponsorship.

Submitted: 20.08.2024

Accepted: 18.10.2024

Contacts: dmitrievhaematol@mail.ru

Abstract

Purpose. To study changes in blood coagulation in the dynamics of allogeneic transplantation of hematopoietic bone marrow cells in children.

Materials and methods. The study included 28 patients aged 9.0 (1.0–20.0) years who were being treated for hematological malignancies. There are 21 boys, 7 girls.

Results. On the eve of conditioning, a state of normocoagulation was registered in the examined patients. After allo-HSCT, an increase in the activity and content of von Willebrand factor was observed in combination with an increase in the activity of factor VIII. The presence of a correlation between increased factor VIII activity and the activity of protein C and protein S indicated hypercoagulation controlled by natural anticoagulants. On the day the event was detected (acute GVHD, SOS, TA-TMA), an extremely high content of 163.0 (99.0–237.0)% and activity of 227.0 (142.0–340.0)% of von Willebrand factor were detected. An increase in the activity of factor VIII over 200% did not depend on the content of von Willebrand factor, which, in combination with a decrease in the activity of protein S, contributed to hypercoagulation not controlled by inhibitors.

Conclusion. Changes in blood coagulation in the dynamics of HSCT were secondary in nature and reflected endothelial dysfunction resulting from the action of a damaging agent.

A predominant increase in the content and activity of von Willebrand factor, factor VIII activity against the background of changes in the activity of protein C and a decrease in the activity of protein S can be used as predictors of endothelial dysfunction, regardless of the characteristics of the damaging agent.

Keywords: hemoblastoses, children, bone marrow, hemopoietic stem cells, transplantation, blood clotting



■ ВВЕДЕНИЕ

Аллогенная трансплантация костного мозга – единственный лечебный вариант при многих доброкачественных и злокачественных онкогематологических заболеваниях (острый лимфобластный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, нейробластома, апластическая анемия, иммунодефициты и др.) [1].

Наиболее часто встречаемыми осложнениями трансплантации костного мозга (ТКМ), несущими высокий риск заболеваемости и смертности, являются: реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ, Т86.0 по МКБ-10), тромботическая микроангиопатия (ТМА, М31.1 по МКБ-10), синусоидальный обструктивный синдром (СОС, К76.5 по МКБ-10). Данные патологии развиваются, как правило, в ранний посттрансплантационный период и являются следствием активации и повреждения эндотелия [2].

В настоящее время в мире ведутся активные исследования по поиску информативных и чувствительных маркеров раннего развития дисфункции эндотелия. Среди них: циркулирующие провоспалительные цитокины (IL-1, IL-6, IL-8, интерферон гамма, TNF α), ангиогенные факторы (VEGF, ANG2), адгезионные молекулы (ICAM-1, VCAM-1, P-selectin, E-selectin), белковый комплекс системы комплемента C5b-9, циркулирующие микро-РНК. Вышеперечисленные маркеры сигнализируют об активации эндотелия и развитии его дисфункции, однако на сегодняшний день не существует идеального биомаркера, обладающего необходимой чувствительностью и специфичностью [3–5]. Ряд исследователей в качестве маркеров эндотелиальной дисфункции рассматривают коагуляционные факторы (vWF, PAI, FVIII, protein C, тромбомодулин, антитромбин III, содержание Д-димеров и продуктов деградации фибриногена и фибрина) [6–9]. Данных об изменении показателей свертывания крови в динамике аллогенной ТГСК у детей не представлено.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить изменения свертывания крови в динамике трансплантации гемопоэтических клеток костного мозга (ТГСК) у детей.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 27 пациентов в возрасте 9,0 (1,0–20,0) года, находившихся на лечении в ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии». Мальчиков – 22, девочек – 5. С января по декабрь 2023 г. 27 пациентов получили 28 ТГСК. Аллогенные ТГСК проведены 25 реципиентам, 2 пациента (герминогенная опухоль, нейробластома) получили высокодозную ХТ с поддержкой аутологичных периферических стволовых клеток – аутоПСК (n=3). В группе пациентов, которым была проведена аллогенная ТГСК, количество пациентов с острым лимфобластным лейкозом составило 7 человек (28%), с острым миелобластным лейкозом – 7 человек (28%), 5 (20%) реципиентов имели диагноз «приобретенная апластическая анемия», 3 (12%) – первичный иммунодефицит, 1 (4%) – вторичный миелодиспластический синдром, 1 (4%) – анапластическая крупноклеточная лимфома, 1 (4%) – острый лейкоз со смешанным фенотипом. Миелоаблативный режим кондиционирования получили 20 (80%) реципиентов, из них тотальное облучение тела выполнено 6 пациентам, бусульфан/треосульфан получали 9 реципиентов (36%). Режим со сниженной интенсивностью получили 5 человек

(20%). В зависимости от донора ГСК 6 пациентам (24%) выполнена алло-ТГСК от родственного совместимого донора, 9 человек (36%) получили ТГСК от неродственного совместимого донора, 10 (40%) – гаплоидентичную ТГСК.

Подавляющее большинство реципиентов алло-ТГСК (92% (n=23)) получили циклоспорин в монотерапии или в комбинации с другими иммуносупрессивными препаратами. Также в составе ИСТ применяли микофенолата мофетил (n=14; 56%), метотрексат (n=4; 16%), абатацепт (n=1; 4%). Реципиенты гапло-ТГСК (n=10) получали циклофосфамид на день +3, +4 после ТГСК; 2 (8%) реципиента – руксолитиниб и метилпреднизолон в составе комбинированной ИСТ. На момент проведения ТГСК индекс Карновского – Ланского ≥ 70 имели 26 (96%) реципиентов. Клиническое состояние на начало кондиционирования расценено как стабильное, компенсированное. Основные показатели гомеостаза приведены в табл. 1.

В качестве события учитывали: ТМА – 1 случай (20-й день после ТГСК), СОС – 2 случая (15–20-й дни после ТГСК), острая РТПХ – 10 пациентов (15–30-й дни). Всего в 28 случаях ТГСК события выявлены в 13 наблюдениях за первые 28–30 дней раннего посттрансплантационного периода. День выявления события определяла дата регистрации осложнения в истории болезни. Оценку клинического состояния и взятие крови пациентов для исследования ЭД проводили в 6 временных точках в течение 100 дней после трансплантации костного мозга: исходная точка – до кондиционирования, в день трансплантации, через 1–2, 14, 28 и 100 дней после трансплантации и/или в день констатации события в истории болезни по клиническим проявлениям осложнений ТГСК.

Венозную кровь для исследования свертывания на момент тромбоза в объеме 3 мл набирали путем пункции периферической вены без наложения жгута, стабилизировали 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1 соответственно. Стабилизированную кровь центрифугировали при ускорении 200g в течение 10 мин для получения богатой тромбоцитами плазмы, после чего тромбоцитарную плазму в отдельной пробирке дополнительно центрифугировали при 2000g в течение 10 мин для приготовления бедной (бестромбоцитарной) плазмы, использовавшейся для исследования. Исследование свертывания включало: регистрацию турбидиметрическим методом хронометрических показателей (активированного парциального тромбопластинового времени – АПТВ, протромбинового времени – ПВ, тромбинового времени – ТВ), содержания плазменного фибриногена методом Claus автоматическими коагулометрами ACL-7000 и ACL-9000 фирмы Instrumentation Laboratory (IL) с использованием диагностических наборов фирмы IL. Количественным методом по тесту агглютинации частиц латекса с адсорбированными на них моноклональными антителами определяли содержание vWF:Ag и активность vWF:RCo фактора Виллебранда набором фирмы IL. Количественным методом по тесту агглютинации частиц латекса с адсорбированными на них моноклональными антителами выявляли содержание Д-димеров набором D-Dimer kit фирмы IL. По тесту агглютинации частиц латекса с адсорбированными моноклональными антителами проводили количественное определение в плазме крови ранних продуктов деградации фибриногена и фибрина (ПДФ) набором PDF PLASMA фирмы Stago и растворимых комплексов мономеров фибрина (ПКМФ) с использованием стандартного набора F.S. TEST фирмы Stago. С использованием хромогенных субстратов, входящих в диагностические наборы IL, регистрировали активность антитромбина III, протеина С и протеина S.



Таблица 1
Характеристика пациентов в динамике аллогенной трансплантации костного мозга у детей
Table 1
Characteristics of patients in the dynamics of allogeneic bone marrow transplantation in children

Анализируемый признак	Этапы исследования и события						
	Этап 1	Этап 2	Этап 3	Этап 4	Этап 5	Этап 6	Этап 7
	События нет n=28	События нет n=28	События нет n=28	События нет n=25	На день события n=3	События нет n=15	На день события n=10
День исследования до или после ТТСК, день	-7	0	+(2-3)	+14	+16,0 13,0-18,0	+28	+22,0 19,0-28,0
Возраст, полных лет	10,0 (1,0-20,0)	10,0 (1,0-20,0)	10,0 (1,0-20,0)	10,0 (1,0-20)	6,8 (2,0-15,0)	13,0 (1-20)	5,0 (1,0-15,0)
Гемоглобин крови, г/л	100,0 81,0-123,0	90,0 76,0-106,0	103,0 80,0-128,0	95,0 81,0-112,0	99,0 87,0-118,0	93,0 78,0-117,0	106,0 94,0-121,0
Лейкоциты крови, 10 ¹² /л	3,92 (0,43-7,29)	0,59 (0,0-1,7) P(2-1)=0,001	0,21 (0,01-0,6) P(3-1)=0,001	1,69 0,01-5,65 P(4-1)=0,01	2,8 0,57-6,01	3,4 1,5-6,4	5,2 1,3-11,1
Тромбоциты венозной крови, 10 ⁹ /л	171,0 24,0-326,0	77,0 13,0-170,0 P(2-1)=0,001	56,0 21,0-119,0 P(3-1)=0,001	44,0 10,0-83,0 P(4-1)=0,01	64,0 17,0-94,0 P(5-1)=0,001	55,0 17,0-119,0 P(5-1)=0,01	65,0 35,0-108,0 P(5-1)=0,01
Лактатдегидрогеназа, МЕ/л	196,0 (100,0-272,0)	176,0 125,0-223,0	201,0 129,0-265,0	219,0* 156,0-298,0	507,0 221,0-794,0	237,0* 169,0-320,0	283,0 154,0-342,0
Креатинин крови, мкмоль/л	41,0 (26,0-63,0)	37,0 (25,0-50,0)	45,0 (26,0-59,0)	39,0 27,0-58,0	38,0 27,0-49,0	49,0 30,0-79,0	30,0 19,0-46,0
ЛДГ (МЕ) × креатинин (мг/100 мл) × ТР ⁻¹	0,8 (0,2-1,5)	2,0 (0,52-4,13) P(2-1)=0,01	2,5 (0,4-4,5) P(3-1)=0,0001	3,0 (0,8-5,5)* P(4-1)=0,01	7,7(1,4-14,0) P(5-1)=0,001	3,6 (0,9-7,8)* P(6-1)=0,01	1,75 (0,6-3,7) P(7-1)=0,01
r Ur Pr / CR	0	0	0	-	-	0,1 (0-0,33)	0,9 (0,0-6,2)
C-реактивный белок, мг/100 мл	1,45 (0,02-5,6)	1,31 (0,08-3,0)	1,9 (0,07-6,1) P(3-1)=0,01	1,0 (0,03-2,1)	2,2 (0,3-6,1)	0,7 (0,02-2,0)	0,4 (0,02-1,2)
C3a, г/л	1,14 (0,84-28)	1,03 (0,66-37)	1,31 (0,97-1,7)	1,52 (1,3-1,8)	-	1,5 (1,2-1,88)	1,2 (1,2-1,2)
C4, г/л	0,28 (0,14-39)	0,22 (0,08-35)	0,25 (0,04-43)	0,4 (0,2-0,5)	-	0,3 (0,1-0,5)	0,06 (0,0-0,06)

Примечания: P – достоверность различия на этапе по сравнению с исходным (этап 1) значением (день= -7); T-тест Wilcoxon; * достоверность различия по сравнению с аналогичным показателем на день события (p<0,05; U-тест Mann – Whitney).

Для коагуляционных показателей в качестве контроля использовали нормальную контрольную плазму, входящую в состав диагностических наборов фирмы IL. Представление результатов хронометрических тестов в виде относительной величины (R), равной отношению исследуемого хронометрического показателя к величине соответствующего показателя контрольной плазмы, позволило сравнивать результаты независимо от времени проведения исследования, активности используемых реагентов. По результату определения протромбинового времени с учетом чувствительности реагента анализатор автоматически рассчитывал активность факторов протромбинового комплекса и международное нормализованное отношение (МНО). За величину показателей гемостаза, отражающих возрастную норму, использовали результаты наблюдений, представленные в публикациях Andreu M. et al., 1992 [13], и Toulon P. et al., 2016 [14].

Подсчет показателей общего анализа крови, включая содержание тромбоцитов периферической крови, осуществляли автоматическим анализатором MICROS-60. Дополнительно регистрировали активность лактатдегидрогеназы (МЕ/л), креатинин крови (мкмоль/л), С-реактивный белок (мг/100 мл), количественное содержание комплемента С3а (г/л) и С4 (г/л). Для прогнозирования осложнений при аллогенной трансплантации костного мозга использовали расчетный показатель EASEX (Endothelial Activation and Stress Index): ЛДГ (МЕ) × креатинин (мг/100 мл) × тромбоциты крови⁻¹.

Статистический анализ данных выполнен при помощи компьютерного пакета программ STATISTICA (версия 6.0). Количественные показатели описательной статистики представлены как медиана (10–90-й процентиля). Достоверность различия показателей в сравниваемых группах оценивали по критерию Mann – Whitney Test (U), а для попарно связанных вариантов – по парному критерию Вилкоксона (T). Значимыми признаны различия для $P < 0,05$. Взаимосвязь между изменением значений коагуляционных показателей оценивали по критерию ранговой корреляции G.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Перед началом кондиционирования ($D = -7$) у всех пациентов зарегистрировано состояние нормокоагуляции, на что указывали величина отношения АПТВ пациента / АПТВ в контроле 1,01 (0,82–1,21), активность факторов протромбинового комплекса 87,0 (71,0–105,0)%, содержание фибриногена 3,4 (2,4–5,1) г/л и содержание тромбоцитов венозной крови $171,0 (24,0–326,0) \times 10^9/\text{л}$. Зарегистрировано близкое к возрастной норме содержание vWF:Ag 136,0 (107,0–167,0)% и активности vWF:RCo 137,0 (84,0–211,0)% фактора Виллебранда, активности фактора свертывания крови VIII 119,6 (80,0–168,0)%. Активность антитромбина III 105,0 (82,0–128,0)%, протеина С 84,0 (54,0–110,0)%, протеина S 91,0 (68,0–129,0)% также была близка к возрастной норме.

После завершения кондиционирования на $D = 0$ выявлено (табл. 2) повышение ($p = 0,006$; T-тест) активности факторов протромбинового комплекса до 96,0 (86,7–109,0)%. Повышение содержания vWF:Ag 151,0 (134,0–176,0)% коррелировало ($G = 0,39$; $p = 0,009$) с повышением активности фактора VIII 142,0 (86,0–193,0)% и сопровождалось снижением активности протеина S до 88,0 (67,0–110,0)%. Рост активности фактора VIII коррелировал ($G = 0,295$; $p = 0,025$) с изменением активности протеина С 94,0 (69,0–136,0).



После алло-ТГСК ($D=+2$) сохранялась повышенная ($p=0,03$) активность факторов протромбинового комплекса 96,5 (80,0–116,0)% на фоне повышения ($p=0,01$) по сравнению с исходным значением содержания фибриногена до 3,9 (2,5–5,2) г/л. Рост ($p=0,03$) Д-димеров до 0,8 (0,29–1,42) мкг/мл был сопряжен ($G=0,724$; $p=0,001$) с повышением ПДФ до 3,4 (1,5–5,8) мкг/мл ($p=0,01$) по сравнению с исходным, что, однако, не превышало референтный диапазон нормы ($<5,0$ мкг/мл). Зарегистрирован рост содержания vWF:Ag 154,0 (131,0–171,0)% и активности vWF:RCo 175,0 (124,0–244,0)%. Повышение активности фактора Виллебранда было тесно связано ($G=0,502$; $p=0,001$) с ростом ($p=0,002$) активности фактора VIII до 155,0 (112,0–208,0)%. Наличие корреляционной связи между повышением активности фактора VIII, и активностью протеина С 95,0 (66,0–133,0)% ($G=0,32$; $p=0,001$), и изменением активности протеина S 84,0 (68,0–105,0)% ($G=0,32$; $p=0,0001$) указывало на контролируемую естественными антикоагулянтами гиперкоагуляционную направленность изменений свертывания крови.

Хронометрические показатели 25 пациентов при бессобытийном течении раннего посттрансплантационного периода на 14-й день мало отличались от исходного значения и указывали на состояние нормокоагуляции. Обращало внимание прогрессирующее повышение содержания 157,0 (127,0–176,0)% и активности 175,0 (124,0–244,0)% фактора Виллебранда. Повышение vWF:RCo было тесно связано ($G=0,481$; $p=0,007$) с повышением активности фактора VIII до 160,0 (84,0–272,0)% ($p=0,04$) по сравнению с исходным значением. Отсутствие взаимосвязи между повышением активности фактора VIII и изменением активности протеина С 93,0 (39,0–168,0)% ($G=0,362$; $p=0,07$) и протеина S 84,0 (68,0–105,0)% ($G=0,241$; $p=0,17$) указывало на потерю антикоагулянтного контроля за активацией свертывания крови.

Тяжесть состояния 3 из 28 пациентов на день 16,0 (13,0–18,0) усугубило появление события в виде клинических симптомов острой РТПХ (2 пациента) и синусоидального обструктивного синдрома (1 пациент). Пациенты показали преимущественный рост содержания 172,0 (169,0–175,0)% и активности 261,0 (234,0–277,0)% фактора Виллебранда, активности фактора VIII 212,0 (180,0–275,0)%. На повышенную склонность к тромбообразованию косвенно указывало повышенное по сравнению с исходным значением содержание Д-димеров 3,6 (0,7–8,6) мкг/мл и ПДФ 10,8 (5,5–21,0) мкг/мл, что было больше ($p<0,05$), чем у 25 пациентов с бессобытийным посттрансплантационным периодом. Следует отметить, что содержание С-реактивного протеина 2,2 (0,3–6,1) мг/дл мало отличалось ($p=0,082$) от исходного значения 1,45 (0,02–5,6) мг/дл.

Большинство хронометрических показателей 15 пациентов к 28-му дню бессобытийного течения раннего посттрансплантационного периода не отличались от своего исходного значения. Активность антитромбина III 124,0 (91,0–200,0)%, протеина С 116,0 (66,0–200,0)%, протеина S 101,0 (58,0–153,0) незначительно превышала значения соответствующих показателей перед началом кондиционирования. Сохранялись повышенные, по сравнению с исходным значением, содержание 166,0 (152,0–180,0)% и активность 206,0 (109,0–291,0)% фактора Виллебранда. Повышение активности фактора VIII до 171,0 (83,0–298,0)% зависело ($G=0,442$; $p=0,012$) от изменения активности vWF:RCo 206,0 (109,0–291,0)%.

Клинические проявления острой РТПХ ($n=8$), веноокклюзионной болезни в виде синусоидального обструктивного синдрома ($n=1$), тромботической микроангиопатии ($n=1$) в период с 19-го по 28-й день осложнили алло-ТГСК у 10 пациентов.

Характерными изменениями свертывания крови на день события были повышенное, по сравнению с исходным, содержание 163,0 (99,0–237,0)% и активность 227,0 (142,0–340,0)% фактора Виллебранда. Повышение активности фактора VIII 161,0 (99,0–237,0)% не зависело ($G = -0,114$; $p = 0,6$) от содержания фактора Виллебранда, но было связано ($G = 0,6$; $p = 0,011$) с повышением активности протеина С 113,0 (57,0–200,0)%. Зарегистрировано снижение, по сравнению с исходным, активности протеина S до 80,0 (44,0–122,0)%, что было ниже аналогичного показателя 101,0 (58,0–153,0)% на 28-й день при неосложненной ТГСК. Ускоренную генерацию тромбина косвенно отражали повышенное содержание РКМФ 9,4 (4,3–19,0) мкг/мл и Д-димеров 1,97 (0,21–2,7) мкг/мл.

Повышенное, по сравнению с исходным, содержание 153,0 (119,0–175,0)% и активность 165,0 (129,0–249,0)% фактора Виллебранда зарегистрированы у 11 пациентов с бессобытийным течением на 100-й день посттрансплантационного периода. Активность фактора VIII 137,0 (75,0–223,0), естественных антикоагулянтов не отличалась от исходной, что указывало на относительную стабилизацию показателей плазменного звена свертывания крови.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Эндотелиальные клетки (ЭК) в силу анатомо-морфологических особенностей строения различных тканей организма одними из первых взаимодействуют с различными патологическими (лекарственные средства, ионизирующее излучение, продукты клеточного повреждения, элементы системы комплемента) и физиологическими (цитокины, метаболиты кининогенеза, катехоламинов, глюкокортикоиды, регуляторные молекулы эндокринной системы, элементы свертывания крови) агентами [4]. Одновременно ЭК являются ключевым регулятором реакции воспаления за счет высвобождения специфических маркеров, таких как фактор фон Виллебранда (VWF), тромбомодулин (ТМ), активатор плазминогена типа 1 (PAI-1), содержание и активность металлопротеиназы ADAMS 13, расщепляющей VWF и растворимые молекулы клеточной адгезии (sCAM). Перечисленные маркеры, по мнению экспертов, являются маркерами активации и повреждения ЭК [10].

Накануне ТГСК исследователи выявили повышение, по сравнению с контролем, содержания и активности VWF, содержания ТМ, ангиопоэтина-2 (ANG2), экспрессируемых ЭК. Данное обстоятельство косвенно указывало на предшествовавшее ТГСК повреждение эндотелия, связанное с основным онкогематологическим заболеванием или предшествовавшим лечением [10, 11]. В первые недели после ауто- и алло-ТГСК исследователи отметили увеличение VWF и растворимого межклеточного белка CAM-1 (sICAM-1). У пациентов после алло-ТГСК, у которых развились SOS, ТА-ТМА и GVHD, наблюдалось значительное повышение содержания как VWF, так и ТМ [11]. Кроме того, повышенные уровни VWF и ТМ (в сочетании с повышением ICAM-1 и Е-селектина), измеренные через 1 неделю после ТГСК, были использованы в качестве биомаркера для прогнозирования СОС у пациентов, получавших такролимус и сиролимус в качестве профилактики РТПХ [5, 12].

Накануне кондиционирования у обследованных нами пациентов зарегистрировано состояние нормокоагуляции. После завершения кондиционирования выявлено состояние гиперкоагуляции, на что указывали повышение активности факторов протромбинового комплекса, активности фактора Виллебранда и фактора



Таблица 2
Изменение показателей свертывания крови в динамике аллогенной трансплантации костного мозга у детей
Table 2
Changes in blood coagulation parameters in the dynamics of allogeneic bone marrow transplantation in children

Анализируемый признак	Этапы исследования и события						
	Этап 1	Этап 2	Этап 3	Этап 4	Этап 5	Этап 6	Этап 7
	События нет n=28	События нет n=28	События нет n=28	События нет n=25	На день со- бытия n=3	События нет n=15	На день со- бытия n=10
День исследования до или после ТКМ, день	-7	0	+(2-3)	+14	+16,0 13,0-18,0	+28	+22,0 19,0-28,0
Отношение АПТВ пациента / АПТВ в контроле, ед.	1,01 0,82-1,21	0,98 0,82-1,14	1,01 0,81-1,23	1,07 0,87-1,36	1,08 0,98-1,12	1,01 0,69-1,39	0,95 0,83-1,13
Активность факторов про- тромбинового комплекса, %	87,5 71,0-105,0	96,5 86,7-109,0 P(2-1)=0,006	96,5 80,0-116,0 P(3-1)=0,03	90,0 71,0-108,0	89,0 84,0-93,0	90,0 73,0-112,0	89,0 64,0-114,0
Фибриноген, г/л	3,4 2,4-5,1	3,3 2,2-4,6	3,9 2,5-5,2 P(3-1)=0,01	4,1 2,2-5,8 P(4-1)=0,001	3,8 2,7-5,4	3,4 1,46-5,3	2,6 1,4-4,0
Фактор Виллебранда, %	136,9 107,0-167,0	151,0 134,0-176,0 P(2-1)=0,01	154,0 131,0-171,0 P(3-1)=0,002	157,0* 127,0-176 P(4-1)=0,006	172,0 169,0-175 P(5-1)=0,02	166,0 152,0-180,0 P(6-1)=0,003	163,0 99,0-237,0 P(7-1)=0,002
Активность фактора Вилле- бранда, %	137,0 84,6-211,0	155,0 112,0-208,0	175,0 124,0-244,0 P(3-1)=0,002	200,0* 84,0-272,0 P(4-1)=0,001	261,0 234,0-277 P(5-1)=0,02	206,0* 109,0-291,0 P(6-1)=0,003	227,0 142,0-340,0 P(7-1)=0,001
Активность фактора VIII, %	119,6 80,0-168,0	142,0 86,0-193,0 P(2-1)=0,01	155,0 78,0-259,0 P(3-1)=0,01	160,0* 84,0-272,0 P(4-1)=0,04	212,0 180,0-275,0 P(5-1)=0,045	171,0* 83,0-298,0 P(6-1)=0,02	161,0 99,0-237,0 P(7-1)=0,03
Активность антитромбина III, %	105,0 82,0-128,0	111,0 97,0-126,0	110,2 96,0-124,0	107,0 72,0-125,0	123,0 112,0-130,0	124,0 91,0-200,0	113,0 90,0-133,0
День исследования до или после ТКМ, день	-7	0	+(2-3)	+14	+16,0 13,0-18,0	+28	+22,0 19,0-28,0
Активность протеина C, %	84,0 54,0-110,0	94,0 69,0-136,0	95,0 66,0-133,0	93,0 39,0-168,0	84,0 60,0-119,0	116,0 66,0-200,0	113,0 57,0-200,0

Окончание таблицы 2

Анализируемый признак	Этапы исследования и события						
	Этап 1	Этап 2	Этап 3	Этап 4	Этап 5	Этап 6	Этап 7
	События нет n=28	События нет n=28	События нет n=28	События нет n=25	На день со- бытия n=3	События нет n=15	На день со- бытия n=10
Активность протеина S, %	91,0 68,0–129,0	88,0 67,0–110,0 P(2–1)=0,03	84,0 68,0–105,0	84,0 65,0–127,0	96,0 75,0–108,0	101,0* 58,0–153,0	80,0 44,0–122,0 P(7–1)=0,04
Д-димер, мкг/мл	0,78 0,21–1,37	0,66 0,26–1,07	0,8 0,29–1,42 P(3–1)=0,03	2,7* 0,4–3,9 P(4–1)=0,02	3,6 0,7–8,6 P(5–1)=0,01	0,7* 0,3–0,92	1,97 0,21–2,7 P(7–1)=0,01
Продукты деградации фибриногена и фибрина, мкг/мл	2,12 0,94–4,94	2,92 1,65–5,8 P(2–1)=0,02	3,4 1,5–5,8 P(3–1)=0,01	2,7* 1,6–5,4	10,8 5,5–21,0 P(5–1)=0,01	3,0* 1,6–7,0 P(6–1)=0,01	5,4 2,2–23,0 P(7–1)=0,04
Растворимые комплексы мономеров фибрина, мкг/мл	8,29 3,0–11,54	7,0 2,0–16,4 P(2–1)=0,02	9,5 3,3–39,7	8,0 2,4–12,0	8,0 3,2–17,0	8,2 1,9–10,7	9,4 4,3–19,0
Тромбоциты венозной крови, 10 ⁹ /л	171,0 24,0–326,0	77,0 13,0–170,0 P(2–1)=0,001	56,0 21,0–119,0 P(3–1)=0,001	44,0 10,0–83,0 P(4–1)=0,002	63,0 17,0–94,0 P(5–1)=0,003	55,0 17,0–119,0 P(6–1)=0,007	65,0 35,0–108,0 P(7–1)=0,01

Примечания: Р – достоверность различия на этапе по сравнению с исходным (этап 1) значением (день = –7); Т-тест Wilcoxon; * достоверность различия по сравнению с аналогичным показателем на день события (p<0,05; U-тест Mann – Whitney).



свертывания крови VIII в сочетании со снижением активности протеина S. Наличие тесной взаимосвязи между повышением активности фактора VIII и изменением активности протеина S отражало контролируемую ингибиторами компенсаторную реакцию по предотвращению полиорганной недостаточности.

После алло-ТГСК (Д+2) отмечен дальнейший рост активности и содержания фактора Виллебранда в сочетании с повышением активности фактора VIII. Данный эффект был расценен как непосредственный результат самой процедуры ТГСК. Наличие корреляционной связи между повышением активности фактора VIII, с одной стороны, и активностью протеина S и изменением активности протеина S, с другой стороны, указывало на контролируемую естественными антикоагулянтами гиперкоагуляционную направленность изменений свертывания крови.

Характерными изменениями свертывания крови на день констатации события (острая РТПХ, ВОБ, ТА-ТМА) были заведомо высокое, по сравнению с исходным, содержание 163,0 (99,0–237,0)% и активность 227,0 (142,0–340,0)% фактора Виллебранда. Повышение активности фактора VIII не зависело от содержания фактора Виллебранда, что в сочетании со снижением активности протеина S способствовало не контролируемой ингибиторами свертывания гиперкоагуляции. Ускоренную генерацию тромбина подтверждали повышенное содержание РКМФ 9,4 (4,3–19,0) мкг/мл и Д-димеров 1,97 (0,21–2,7) мкг/мл. Изменения свертывания носили вторичный характер и отражали эндотелиальную дисфункцию, возникшую в результате действия кондиционирования, ТГСК и повреждающего агента, спровоцировавшего событие.

Таким образом, изменения свертывания крови в динамике алло-ТГСК следует рассматривать как реакцию, направленную на поддержание гомеостаза. Преимущественный рост содержания и активности фактора Виллебранда, активности фактора VIII на фоне изменения активности протеина S и снижения активности протеина S объективно отражает изменения функционального состояния эндотелия сосудов и может быть использован в качестве предиктора эндотелиальной дисфункции независимо от особенностей повреждающего агента.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Snowden JA, Sánchez-Ortega I, Corbacioglu S, et al. Indications for haematopoietic cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: Current practice in Europe 2022. *Bone Marrow Transplant.* 2022;57(8):1217–39. doi: 10.1038/s41409-022-01691-w
2. Passweg JR, Baldomero H, Chabannon C, et al. Hematopoietic cell transplantation and cellular therapy survey of the ebmt: Monitoring of activities and trends over 30 years. *Bone Marrow Transplant.* 2021;56(7):1651–64. doi: 10.1038/s41409-021-01227-8
3. Nomura S, Ishii K, Fujita S, et al. Associations Between Acute GVHD-related Biomarkers and Endothelial Cell Activation After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Transpl Immunol.* 2017;43(44):27–32. doi: 10.1016/j.trim.2017.06.004
4. Zeigler ZR, Rosenfeld CS, Andrews DF, et al. Plasma Von Willebrand Factor Antigen (vWF : AG) and Thrombomodulin (TM) Levels in Adult Thrombotic Thrombocytopenic Purpura/Hemolytic Uremic Syndromes (TTP/HUS) and Bone Marrow Transplant-Associated Thrombotic Microangiopathy (BMT-TM). *Am J Hematol.* 1996;53:213–20. doi: 10.1002/(SICI)1096-8652(199612)53:4<213::AID-AJH1>3.0.CO;2-0
5. Ali AM, DiPersio JF, Schroeder MA. The Role of Biomarkers in the Diagnosis and Risk Stratification of Acute Graft-versus-Host Disease: A Systematic Review. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016;22:1552–64. doi: 10.1016/j.bbmt.2016.04.022
6. Harper PL, Jarvis J, Jennings I, et al. Changes in the natural anticoagulants following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1990;5:39–42.
7. Gordon B, Haire W, Kessinger A, et al. High frequency of antithrombin 3 and protein C deficiency following autologous bone marrow transplantation for lymphoma. *Bone Marrow Transplant.* 1991;8: 497–502.
8. Collins PW, Gutteridge CN, O'Driscoll A, et al. von Willebrand factor as a marker of endothelial cell activation following BMT. *Bone Marrow Transplant.* 1992;10:499–506.

9. Catani L, Gugliotta L, Mattioli Belmonte M, et al. Hypercoagulability in patients undergoing autologous or allogeneic BMT for hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant.* 1993;12:253–259.
10. Richard S, Seigneur M, Blann A, et al. Vascular Endothelial Lesion in Patients Undergoing Bone Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1996;18:955–9.
11. Luft T, Dietrich S, Falk C, et al. Steroid-Refractory GVHD: T-Cell Attack Within a Vulnerable Endothelial System. *Blood.* 2011;118:1685–92. doi: 10.1182/blood-2011-02-334821
12. Zeiser R, Blazar BR. Acute Graft-versus-Host Disease - Biologic Process, Prevention, and Therapy. *N Engl J Med.* 2017;377:2167–79. doi: 10.1056/NEJMra1609337
13. Andrew M, Vegh P, Johnston M, et al. Maturation of the Hemostatic System During Childhood. *Blood.* 1992;80(8):1998–2005.
14. Toulon P, Berruyer M, Brionne-Francois M. Age dependency for coagulation parameters in paediatric populations. *Thrombosis and haemostasis.* 2016;116(1):9–17.