

На правах рукописи



Слуханчук Екатерина Викторовна

Тромбовоспаление и нарушения гемостаза в патогенезе онкогинекологических заболеваний и в процессе противоопухолевой терапии

3.1.4. Акушерство и гинекология

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва – 2025

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук, профессор

Бицадзе Виктория Омаровна
Солопова Антонина Григорьевна

Официальные оппоненты:

Зайнулина Марина Сабировна – доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Родильный дом №6 имени профессора В.Ф. Снегирева», главный врач

Жордания Кирилл Иосифович – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, онкогинекологического отделения хирургических методов лечения №8 (онкогинекологии), ведущий научный сотрудник

Васильев Сергей Александрович – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ведущий научный сотрудник, врач гематолог

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «21» апреля 2025 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.28 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1) и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2025 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета ДСУ 208.001.28
доктор медицинских наук, профессор



Семиков Василий Иванович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Злокачественные новообразования являются одной из самых значимых проблем, затрагивающих систему здравоохранения. Отмечается постоянный рост числа злокачественных новообразований во всем мире. За последние годы достигнуты значительные успехи в профилактике, диагностике и лечении онкогинекологических заболеваний, но многие вопросы все еще изучены недостаточно. Несмотря на углубление знаний в области патогенеза опухолевого роста, метастазирования, усовершенствование методов диагностики, раннюю выявляемость заболеваний, разнообразие современных методов лечения, в том числе и хирургических технологий, позволяющих осуществлять оптимальную и полную циторедукцию, статистика выживаемости не улучшается. По-прежнему велика частота осложнений, по-прежнему мы сталкиваемся с прогрессией опухоли, тромбозами и метастазированием.

Тромбоз осложняет течение онкологического процесса, о чем человечеству известно более 200 лет (А. Trousseau, 1865). Как известно в настоящее время, механизмы, приводящие к тромбозу при раке, включают в себя не только активацию системы свертывания, но и патологическую активацию эндотелия, лейкоцитов, тромбоцитов на фоне действия провоспалительных цитокинов. Опухолевые клетки выделяют большое количество цитокинов, которые способствуют развитию и поддержанию хронического провоспалительного состояния, являющегося звеном патогенеза как тромбоза, так и опухолевого роста. Активированные тромбоциты, выделяя молекулы адгезии, обеспечивают взаимодействие с нейтрофилами и моноцитами, приводя к формированию и циркуляции тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов. Тромбоциты привлекаются к активированному эндотелию, дополнительно усиливая реципрокную активацию обоих типов клеток.

В последние годы растет количество исследований, подтверждающих большую роль лейкоцитов в развитии протромботического состояния. Недавно было показано, что нейтрофилы способны вытеснять ДНК и внутриклеточное содержимое в виде паутины (V. Brinkmann, U. Reichard, C. Goosmann et al, 2004) . Они носят название внеклеточные ловушки нейтрофилов (NETs – neutrophil extracellular traps) и обладают большим как протромботическим, так и проонкогенным потенциалом. NETs могут явиться одним из патогенетических и прогностических факторов риска тромбоза, прогрессии опухоли и метастазирования у онкологических больных. NETs способствуют формированию преметастатической ниши за счет захвата циркулирующих опухолевых клеток в сети, формирования участков, из которых клетки впоследствии могут выделяться и участвовать в процессах метастазирования. Хирургическое

вмешательство с целью циторедукции может способствовать в том числе и метастазированию за счет активации нейтрофилов с последующим образованием NETs.

Фактор фон Виллебранда (VWF), участник реакций тромбовоспаления, ответственен за адгезию и агрегацию тромбоцитов. Мульмеры VWF расщепляет металлопротеиназа ADAMTS-13, тем самым регулируя его количество и активность. Дефицит ADAMTS-13 приводит к повышенной концентрации и активности мульмеров VWF, повышению агрегации тромбоцитов и развитию тромботических осложнений. На фоне опухолевого роста опухолевые клетки повреждают и активируют эндотелий, в частности за счет действия тканевого фактора, цистеиновой протеазы, что способствует высвобождению большого количества мульмеров VWF и активации ADAMTS-13. Далее происходит интенсивное потребление металлопротеиназы ADAMTS-13, с последующим снижением ее концентрации и активности. Ряд лекарственных препаратов, активно используемых при химиотерапии у онкогинекологических пациенток, напрямую токсичен для эндотелия. Кроме того, на фоне их использования происходит формирование эндотелиотоксичных иммунных комплексов и нарастание риска развития тромботических осложнений.

Степень разработанности темы исследования

Профилактика тромбозных осложнений у онкогинекологических пациенток остается сложной и не до конца решенной задачей. Тромбоз при раке развивается в 4–7 раз чаще, чем в общей популяции. Риск венозного тромбоза зависит от ряда факторов. Это, как известно, и гистологический тип опухоли и стадия заболевания (F. Moik, C. Ay, I. Rabinger et al., 2020), а также индивидуальный протромботический профиль пациента, который представляет собой результирующую показателей пола, возраста, сопутствующих заболеваний и видов проводимой противоопухолевой терапии (A.A. Khorana, N. Mackman, A. Falanga et al., 2022). В последние годы разработаны различные шкалы оценки риска тромбоза у онкологических больных. Однако, несмотря на использование рекомендуемых шкал и проводимой на их основе противотромботической профилактики, тромбозы все равно сохраняют свое второе место в структуре смертности онкологических пациентов. В этой ситуации не стоит недооценивать как роль реакций тромбовоспаления, так и приобретенной и врожденной тромбофилии (F.I. Mulder, E. Horvath-Puhó, N. van Es et al., 2021) при разработке современных шкал оценки риска тромбоза у онкологических больных.

Персонализация риска тромбоза и прогнозирование течения заболевания у каждой отдельной пациентки на основании современных знаний о проблеме, использование современных биомаркеров повышенного риска и адекватной противотромботической профилактики и терапии, и, возможно и противовоспалительной терапии, складываются в

стратегию, дополняющую имеющиеся в арсенале онколога возможности хирургии, лучевой, химио- и иммунотерапии, в конечном итоге приводя к улучшению выживаемости у онкологических больных. Отталкиваясь от роли реакций тромбовоспаления в патогенезе тромбоза у онкологических пациентов необходимо рассмотреть влияние противовоспалительной терапии как на протромботический потенциал, так и на прогрессию опухоли и метастазирование.

Единичны и противоречивы исследования, посвященные изучению тромбовоспаления и нарушений гемостаза в патогенезе тромботических осложнений, прогрессии опухоли и метастазирования у онкогинекологических пациенток, в том числе на фоне противоопухолевой терапии, а следовательно, данная тема представляет большой научно-практический интерес.

Цель и задачи исследования

Цель: Определение роли тромбовоспаления и нарушений гемостаза в патогенезе тромботических осложнений и онкогинекологических заболеваний на фоне противоопухолевой терапии.

Задачи:

1. Изучить выраженность реакций тромбовоспаления у онкогинекологических пациенток в процессе противоопухолевой терапии.
2. Оценить в динамике показатели оси ADAMTS-13 / фактор фон Виллебранда у онкогинекологических пациенток в процессе противоопухолевой терапии.
3. Оценить показатели гемостаза у онкогинекологических пациенток на фоне противоопухолевой терапии.
4. Оценить частоту генетических форм тромбофилии у онкогинекологических пациенток и их вклад в развитие тромбозов в процессе противоопухолевой терапии.
5. Оценить концентрацию гомоцистеина и распространенность полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла среди онкогинекологических пациенток.
6. Оценить распространенность антифосфолипидных антител у онкогинекологических пациенток с тромботическими осложнениями.
7. На основании полученных данных обосновать необходимость модернизации имеющихся шкал оценки риска тромбоза у онкогинекологических пациенток.
8. Установить патогенетическую значимость и эффективность использования противотромботической и противовоспалительной терапии у онкогинекологических пациенток в процессе противоопухолевой терапии; обосновать необходимость создания новых стратегий противотромботической, противовоспалительной и противоопухолевой терапии на основе полученных знаний в области патогенеза рак-ассоциированного тромбоза, прогрессии опухоли и метастазирования.

Научная новизна

В процессе исследования изучены особенности течения реакций тромбовоспаления у онкогинекологических больных, динамика этих реакций в процессе противоопухолевой терапии и возможные подходы к ведению пациенток с учетом полученных данных.

Проведено изучение вклада тромбовоспаления и нарушений системы гемостаза в развитие тромбозов у онкогинекологических пациенток, прогрессию заболевания и метастазирование. Проведено изучение роли наследственной и приобретенной тромбофилии в развитии как тромботических осложнений, так и прогрессии опухоли и метастазировании у онкогинекологических больных. Проанализировано влияние химиотерапии на течение реакций тромбовоспаления. Проведен анализ общих патогенетических путей между тромбозом и воспалением у онкогинекологических пациенток.

На основании полученных данных выявлены высокоинформативные прогностические маркеры неблагоприятных исходов у онкогинекологических пациенток, риска тромботических осложнений и прогнозирования течения заболевания, определена роль патогенетически обоснованного подхода к терапии.

Теоретическая и практическая значимость работы

Значимость работы заключается в формулировке концепции тромбовоспаления и нарушений в системе гемостаза, являющейся составной частью патогенеза тромботических осложнений и прогрессии онкологических заболеваний у онкогинекологических пациенток на фоне противоопухолевой терапии.

Разработан алгоритм обследования онкогинекологических пациенток, направленный на диагностику тромбовоспаления и нарушений гемостаза, который может быть с успехом использован при ведении пациенток. Разработанный алгоритм позволит повысить эффективность и результативность лечения пациенток, снизит риск осложнений, а также улуччит прогнозирование исходов.

Обоснована патогенетическая значимость использования противотромботической терапии не только с целью профилактики и лечения тромботических осложнений у онкогинекологических пациенток, но и с целью влияния на прогрессирование онкологических заболеваний и метастазирование. Предпринята попытка совместного использования антиагулянтной и противовоспалительной терапии с учетом патогенетической роли тромбовоспаления.

Выявлена необходимость поисков новых стратегий противотромботической и противовоспалительной терапии с учетом выявленных новых мишеней.

Методология и методы исследования

Для решения поставленной цели и задач проведены наблюдательное контролируемое нерандомизированное исследование пациенток с онкологическими заболеваниями (аденокарцинома тела и шейки матки, рак яичников и молочных желез) на фоне различных видов терапии, а также анализ архивного материала. Был применен комплексный подход, который включал в себя клиничко-anamнестические, патоморфологические, гемостазиологические, биохимические и статистические методы исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. Нетоз, как компонент тромбовоспаления, является фактором риска прогрессии опухоли, метастазирования и тромботических осложнений у онкогинекологических пациенток.
2. Нетоз у онкогинекологических пациенток приводит к активации гемостаза, о чем свидетельствует достоверная корреляционная зависимость между маркерами активации нетоза и гемостаза.
3. Оценка функционирования оси ADAMTS-13/VWF (концентрации, активности, ингибиторов ADAMTS-13, концентрации VWF, отношения VWF/ADAMTS-13) является информативным методом определения риска тромботических осложнений у онкогинекологических пациенток.
4. Динамическая оценка концентрации маркеров тромбовоспаления и активации гемостаза у онкогинекологических пациенток вносит весомый вклад в пересмотр риска тромботических осложнений и прогноза течения заболевания. Проведение динамической оценки концентрации маркеров нетоза, активации гемостаза и функционирования оси ADAMTS-13/VWF необходимо, учитывая изменения, происходящие на фоне роста опухоли и влияния различных видов противоопухолевой терапии. Помимо оценки вышеуказанных показателей на тактику ведения пациенток также влияет выявление наследственных и приобретенных форм тромбофилии.
5. Генетическая и приобретенная тромбофилия являются не только факторами риска тромботических осложнений у онкогинекологических пациенток, но и вносят вклад в прогрессию опухоли и метастазирование.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология, пункту 1 «Исследования по изучению эпидемиологии, этиологии, патогенеза гинекологических заболеваний», пункту 4 «Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики осложненного течения беременности и родов, гинекологических заболеваний» направлений исследований и паспорту научной специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, пункту 2 «Исследования на молекулярном, клеточном и

органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на современных достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии, биофизики и др.)» направлений исследований.

Степень достоверности и апробация результатов

В диссертационной работе соблюдены этические нормы и принципы доказательной медицины. Высокая степень достоверности результатов работы подтверждается репрезентативным объемом выборки (ретроспективная группа – 207 пациенток, проспективная группа – 262 пациентки, контрольная группа – 50 пациенток), проведением современных диагностических тестов в необходимом объеме (общеклинические исследования и исследования системы гемостаза, определение маркеров нетоза – антигена МРО (миелопероксидаза), CitH3 гистон (цитруллинированный H3 гистон), маркеров активации системы гемостаза – Д-димер и комплексы ТАТ (тромбин-антитромбин), концентрации интерлейкина 8, антител к бета 2 гликопротеину 1, концентрации фактора фон Виллебранда, концентрации и активности и ингибиторов ADAMTS-13, а также определение мутаций и полиморфизмов тромбофилии, концентрации гомоцистеина, циркуляции антифосфолипидных антител и применением современной математико-статистической обработки полученных результатов. Используемые автором методы информативны, своевременны и соответствуют цели и задачам исследования. Научные выводы и положения обоснованы. Результаты, полученные автором, свидетельствуют о решении поставленных задач. Достоверность выполненных исследований подтверждается точностью регистрации первичной документации, в которой полностью отражен объем анамнестических (в том числе семейный и личный тромботический анамнез), клинических (вид опухоли, стадия заболевания, виды проведенной и планируемой противоопухолевой и противотромботической терапии), лабораторных исследований (исследования системы гемостаза, реакций тромбовоспаления, наследственной или приобретенной тромбофилии).

Основные положения диссертационной работы были представлены на:

- XXI Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя»: доклад «Противотромботическая терапия у онкологических больных в условиях COVID-19» (Москва, 2020);
- V Национальном научно-образовательном конгрессе с международным участием «Онкогинекологические проблемы от менархе до постменопаузы»: доклад «Рак и тромбозы», совместно с Benjamin Brenner (Москва, 2021);
- XXIII Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя»: доклад «Тромбовоспаление в онкогинекологии» (Москва, 2022);

- VI Национальном научно-образовательном конгрессе с международным участием «Онкогинекологические проблемы от менархе до постменопаузы»: доклад «Внеклеточные ловушки нейтрофилов и их роль в опухолевом процессе» (Москва, 2022);
- VII Всероссийской конференции с международным участием «Гемостаз, тромбоз и репродукция»: доклад «Нарушения гемостаза, рак и COVID-19» (Санкт-Петербург, 2022);
- VII Национальном научно-образовательном конгрессе с международным участием «Онкогинекологические проблемы от менархе до постменопаузы»: доклад «Нейтрофильные ловушки (NETs) как маркер воспаления и прокоагулянтного состояния» (Москва, 2023);
- VIII Всероссийской конференции с международным участием «Гемостаз, тромбоз и репродукция»: доклад «Тромбовоспаление, метастазирование и прогрессия опухоли» (Санкт-Петербург, 2023);
- Международной научно-практической конференции «Современная медицина»: инновации и актуальные подходы: доклад «Внеклеточные ловушки нейтрофилов, ADAMTS-13 и фактор Виллебранда в патогенезе рак-ассоциированных тромбозов и прогрессии опухоли» (Баку, Азербайджан, 2023);
- Научно-практической конференции, посвященной 120-летию первой онкологической клиники России: доклад «Тромбовоспаление – барьер на пути повышения выживаемости онкологических больных» (Москва, 2023);
- XII Международной конференции по тромбозу и гемостазу в онкологии: постерные доклады «Nets biomarkers in women with endometrial and cervical cancer», «Netosis in gynecological cancer patients during antitumor therapy» (Бергамо, Италия, 2024).

Апробация диссертационной работы проведена на заседании кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол № 11 от 14 июня 2024 года).

Внедрение результатов исследования в практику

Основные положения диссертационного исследования внедрены в практическую работу отделений онкогинекологии и опухолей молочной железы и кожи Университетской клинической больницы № 4 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), отделения абдоминальной хирургии и онкологии (колопроктологии и урогинекологии) ГНЦ РФ ФГБНУ «РНЦХ имени академика Б.В. Петровского», гинекологического отделения и женских консультаций ГБУЗ «ГКБ № 67 имени Л.А. Ворохобова ДЗМ».

Материалы диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Личный вклад автора

Автор принимал активное участие в выборе направления исследования, самостоятельно анализировал и систематизировал отечественную и зарубежную литературу, посвященную проблеме тромбозовоспаления в онкологии. Вклад автора также заключается в непосредственном участии во всех этапах исследования: в постановке задач, их реализации, сборе материала, обработке и интерпретации статистических показателей.

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 19 печатных работ, в том числе 12 научных статей в изданиях, индексируемых в международных наукометрических базах данных Web of Science, Scopus, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer; 7 иных публикаций по теме диссертационного исследования.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 293 страницах машинописного текста, и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, глав результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Работа иллюстрирована 45 рисунками, 48 таблицами, клиническим примером. В библиографическом указателе 580 источников, 26 на русском языке и 554 на иностранных языках.

Благодарности

Выражаем признательность за экспертное научное сопровождение академику РАН, д.м.н., профессору, руководителю кафедры акушерства и гинекологии Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России **Макацария Александру Давидовичу**; д.м.н., профессору кафедры акушерства и гинекологии Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России, профессору медицинского Университета Сорбонны, директору гематологии Центра Тромбозов, Госпиталь Тенон **Элалами Исмаилу**; д.м.н., профессору кафедры акушерства и гинекологии

Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России, профессору гематологии, зав. лабораторией гематологии факультета биологических и фармацевтических наук Университета Монпелье и Университетской больницы Нима, Франция, иностранному члену РАН **Гри Жану-Кристофу**; д.м.н., профессору кафедры акушерства и гинекологии Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России, профессору гематологии Университета Пьера и Марии Кюри, Университета Сорбонны (Франция) и Университета имени Аристотеля в Салониках (Греция) **Геротзиафасу Григориосу**.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на кафедре акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Сбор материала проводился в ГБУЗ ГКОБ № 1 ДЗМ и УКБ 4 Сеченовского Университета.

Диссертационное исследование одобрено Локальным этическим Комитетом ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол № 03-23 от 16.02.2023).

Всего в диссертационную работу включено 469 пациенток в возрасте от 30 до 72 лет, госпитализированных в стационар для планового оперативного лечения или проведения химиотерапии. Контрольную группу составили 50 здоровых женщин. Ретроспективная часть включала анализ архивного материала с 2016 по 2021 годы, куда вошли 207 пациенток со злокачественными новообразованиями органов женской репродуктивной системы и молочной железы. В период с 2019 по 2023 годы проведена проспективная часть диссертационного исследования – контролируемое нерандомизированное исследование с участием 262 пациенток со злокачественными новообразованиями органов женской репродуктивной системы и молочной железы.

Критериями включения онкогинекологических пациенток были:

1. Возраст старше 18 лет;
2. Диагноз при поступлении – рак яичников, молочных желез, аденокарцинома эндометрия, цервикального канала, подтвержденные данными инструментального, лабораторного и клинического обследования;
3. Подписанное информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения пациенток контрольная группа:

1. Возраст старше 18 лет;
2. Отсутствие онкологических заболеваний, тромбозов и тромбоземболий, воспалительных заболеваний;
3. Подписанное информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

Критерии невключения в исследование:

1. Возраст младше 18 лет;
2. Наличие активного инфекционного и/или воспалительного процесса;
3. Сердечно-сосудистые заболевания, тяжелое течение;
4. Сахарный диабет в стадии декомпенсации;
5. Хронические заболевания печени и почек в стадии обострения;
6. Другие сопутствующие онкогинекологические заболевания, тромбоземболические осложнения, сопутствующие коагулопатии и тромбоцитопатии;
7. Прием антикоагулянтов и антиагрегантов;
8. Тромботический или геморрагический синдром на момент обследования.

Критерии исключения: отказ от продолжения участия в исследовании.

В проспективную группу вошли пациентки со злокачественными заболеваниями молочных желез и женских половых органов на разных стадиях: рак тела матки (аденокарцинома, n = 81), из них на стадии 1 TNM – 45 пациенток, на стадии 2 TNM – 28 пациенток, на стадии 3 TNM – 8 пациенток), рак яичников (n = 85, из них на стадии 2 TNM – 37 пациенток, на стадии 3 TNM – 48 пациенток), рак шейки матки – аденокарцинома цервикального канала (n = 15, на стадии 1 TNM – 11 пациенток, на стадии 2 TNM – 4 пациентки), рак молочной железы (n = 81, из них на стадии 1 TNM – 43 пациенток, на стадии 2 TNM – 31 пациенток, на стадии 3 TNM – 7 пациенток). Оперативному лечению подверглись 209 пациенток (рак тела матки n = 78, рак яичников n=53, аденокарцинома цервикального канала n=10, рак молочной железы n = 68). Химиотерапия проведена у 53 пациенток. Адьювантная химиотерапия проведена у 30 пациенток, неoadьювантная – у 23 пациенток.

Всем пациенткам проведены общепринятые методы обследования: сбор жалоб, анамнеза жизни и основного заболевания, осмотр, общеклинические и лабораторные исследования. Диагноз основного заболевания устанавливался на догоспитальном этапе на основании комплексного обследования. Пациенткам проспективной группы производился забор крови четыре раза: до начала терапии при поступлении, через 14 дней после операции или окончания 2 курса химиотерапии, а также через 14 дней после 4 и 6 курсов химиотерапии (Схема 1). Забор проб крови проводили натошак сухой стерильной иглой из локтевой вены в пластиковую пробирку с антикоагулянтом в соотношении 9:1. В качестве антикоагулянта был использован

раствор 3,8% трехзамещенного цитрата натрия, плазма хранилась при температуре -80°C после центрифугирования. В обследование помимо общеклинических исследований и оценки системы гемостаза входило определение маркеров нетоза (антигена MPO, Cit-H3 гистон), маркеров активации системы гемостаза (Д-димер и ТАТ), концентрации интерлейкина 8, антител к бета 2 гликопротеину 1, концентрации фактора фон Виллебранда, концентрации и активности и ингибиторов ADAMTS-13.

На фоне хирургического лечения всем онкогинекологическим пациенткам проводилась профилактика тромботических осложнений препаратами низкомолекулярного гепарина в дозах в зависимости от массы тела и выявленной степени риска тромботических осложнений. Низкомолекулярный гепарин (НМГ) вводили за 6 часов до начала лечения и далее один раз в сутки. Средняя длительность пребывания в стационаре при оперативном лечении составила 8 дней. При проведении химиотерапии профилактика тромботических осложнений до 3 курса химиотерапии не проводилась, так как рутинные тесты гемостазиограммы, оцениваемые, согласно рекомендациям, при поступлении, были не изменены. В последующем противотромботическая профилактика проводилась с использованием НМГ или НМГ + аспирин. В группу НМГ вошли пациентки, имеющие установленный по данным гастроскопии или по данным анамнеза хронический гастрит ($n=25$), в группу НМГ + аспирин – пациентки без хронического гастрита. По остальным показателям достоверных различий между группами не отмечалось ($p > 0,05$). При сборе гинекологического анамнеза особое внимание обращали на возраст, акушерский анамнез, наличие гинекологических заболеваний в анамнезе. Так в группе онкологических больных частота встречаемости таких заболеваний как миома матки, эндометриоз, аномальные маточные кровотечения, гиперпластические процессы эндометрия были выше, чем в контрольной группе. Индекс массы тела был выше у пациенток подгрупп рак молочной железы и рак тела матки.

В ретроспективной части исследования проведен анализ медицинской документации: историй болезни, амбулаторных карт и результатов исследований пациенток. Исходное количество пациенток, чьи данные были доступны, составило 418 человек, по которым была проведена систематизация данных из медицинских документов. Все они были госпитализированы за указанный период со злокачественными новообразованиями женских половых органов и молочной железы для проведения оперативного лечения или курсов химиотерапии. Во время госпитализации до начала терапии у пациенток проводили забор проб крови для определения наследственной тромбофилии, оценки состояния системы гемостаза, концентрации гомоцистеина, циркуляции АФА; все данные были внесены в общую научную базу данных кафедры. Забор крови в ретроспективной группе пациенток проводился однократно при поступлении пациенток в стационар. Полученные данные, а также образцы плазмы хранились и

составили базу данных для последующего анализа. В ретроспективную группу входили пациентки, в медицинской документации которых (истории болезни, исследования из базы данных, а также данные амбулаторных карт) была отражена информация о здоровье в течение 1 года после выписки из стационара, в частности о возникновении тромботических осложнений. Отбор пациенток, включенных в исследование, был проведен на основании критериев включения и исключения, а также наличия информации о тромботических осложнениях в течение 1 года после выписки. Из исследования исключено 211 пациенток, ввиду отсутствия части данных или несоответствия критериям. В итоге в ретроспективную группу вошло 207 пациенток. Из них были выделены две подгруппы пациенток: с тромботическими осложнениями в течение года наблюдения после выписки из стационара (n=98) и без них (n=109). Сравнимые подгруппы были сопоставимы по возрасту, структуре сопутствующих гинекологических и экстрагенитальных заболеваний, распределению источников опухоли и стадий, а также видов терапии. Отсутствовали различия между подгруппами в отношении наличия отдаленных метастазов. В подгруппе пациенток, у которых в течение года после лечения развились тромботические осложнения (n=98), была следующая структура источников опухоли: рак яичников (n=46), рак тела матки (аденокарцинома, n=23), рак молочной железы (n=18) и аденокарцинома цервикального канала (n=11). В подгруппе пациенток без тромботических осложнений (n=109) структура источников опухолей была следующей: рак яичников (n=31), рак тела матки (аденокарцинома, n=33), рак молочной железы (n=35) и аденокарцинома цервикального канала (n=10). Также группы онкологических пациенток и группа контроля не отличались по наследственному тромботическому анамнезу (Схема 2). Изучая структуру гинекологического анамнеза, обращала на себя внимание значительная доля пациенток с миомой матки, аномальными маточными кровотечениями, гиперпластическими процессами эндометрия и эндометриозом в анамнезе среди онкогинекологических пациенток ретроспективной группы.

Осложненный акушерский анамнез выявлен у большого числа пациенток со злокачественными новообразованиями и тромбозами по сравнению с группой без тромбозов и контрольной группой. Частота невынашивания беременности в анамнезе в группе с тромбозами (n=98) составила 46,0% (46 пациенток) по сравнению с 34,9% (38 пациенток) в группе без тромбозов (n=109 пациенток) и 20% (10 пациенток) контрольной группы. Частота преэклампсии в группе пациенток с позднее развившимися тромбозами составила 65,3 (64 пациентки) против 30,3% (33 пациентки) в группе без тромбозов и контрольной группе 8% (4 пациентки). Обращает на себя внимание большое количество пациентов с ожирением, особенно в группе пациенток с опухолями молочной железы и тела матки в обеих подгруппах. Большая часть пациенток в обеих подгруппах была госпитализирована для проведения оперативного лечения: 79,8% (87 пациенток

из 109) в подгруппе без тромбозов и 71,4% (70 пациентки из 98) в подгруппе с тромбозами. Остальные пациентки поступали для проведения адъювантной и неоадъювантной химиотерапии.

Контрольная группа сформирована из 50 здоровых женщин на основании критериев включения и исключения. В контрольной группе проведена оценка частоты наследственной тромбофилии, полиморфизмов фолатного цикла, концентрации гомоцистеина, циркуляции антифосфолипидных антител, исследование системы гемостаза, определение маркеров нетоза (антигена МРО, CitH3 гистон), маркеров активации системы гемостаза (Д-димер и комплексы тромбин-антитромбин (ТАТ)), концентрации интерлейкина 8, антифосфолипидных антител, концентрации фактора фон Виллебранда, концентрации, активности и ингибитора ADAMTS-13.

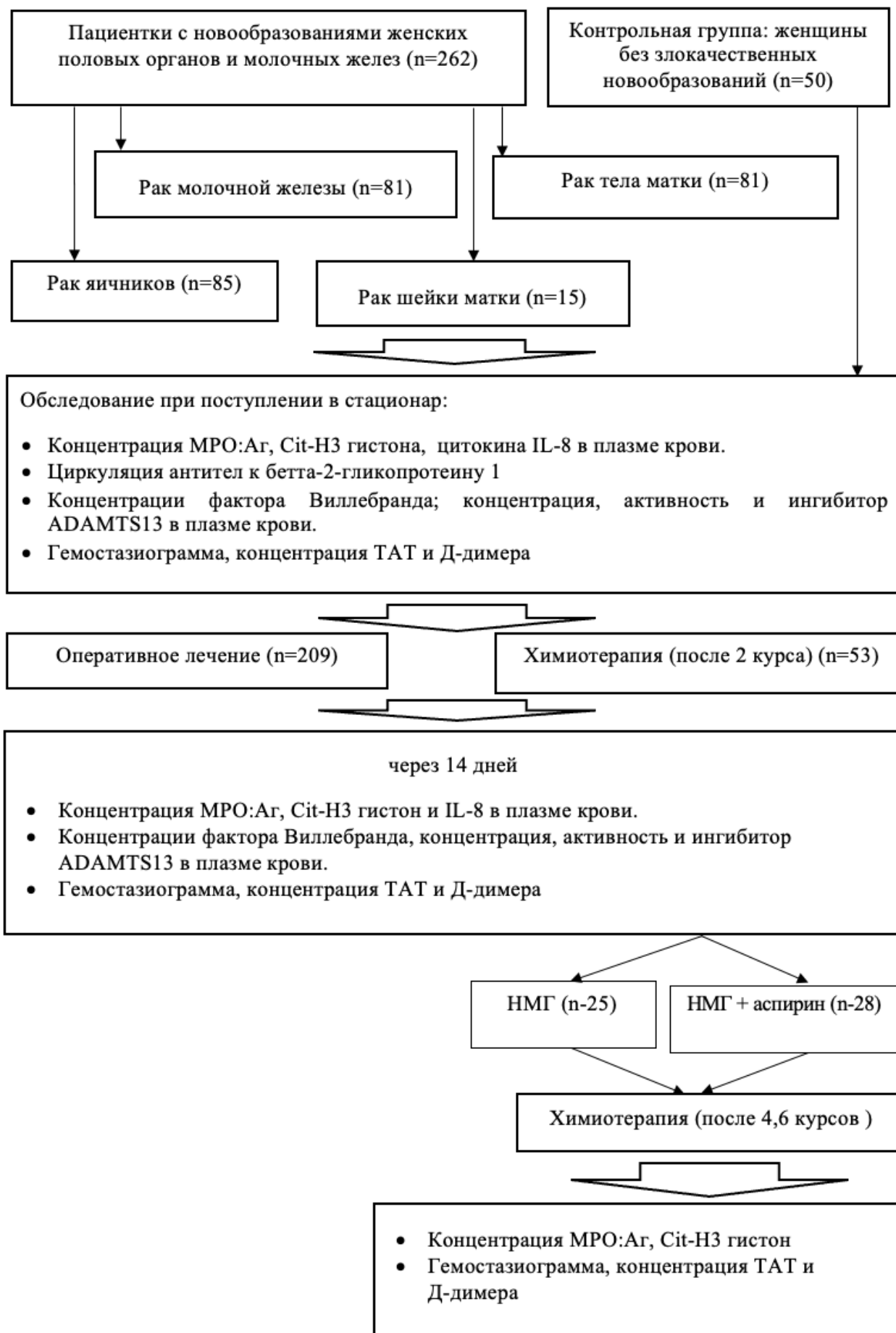


Схема 1 – Дизайн исследования в проспективной группе

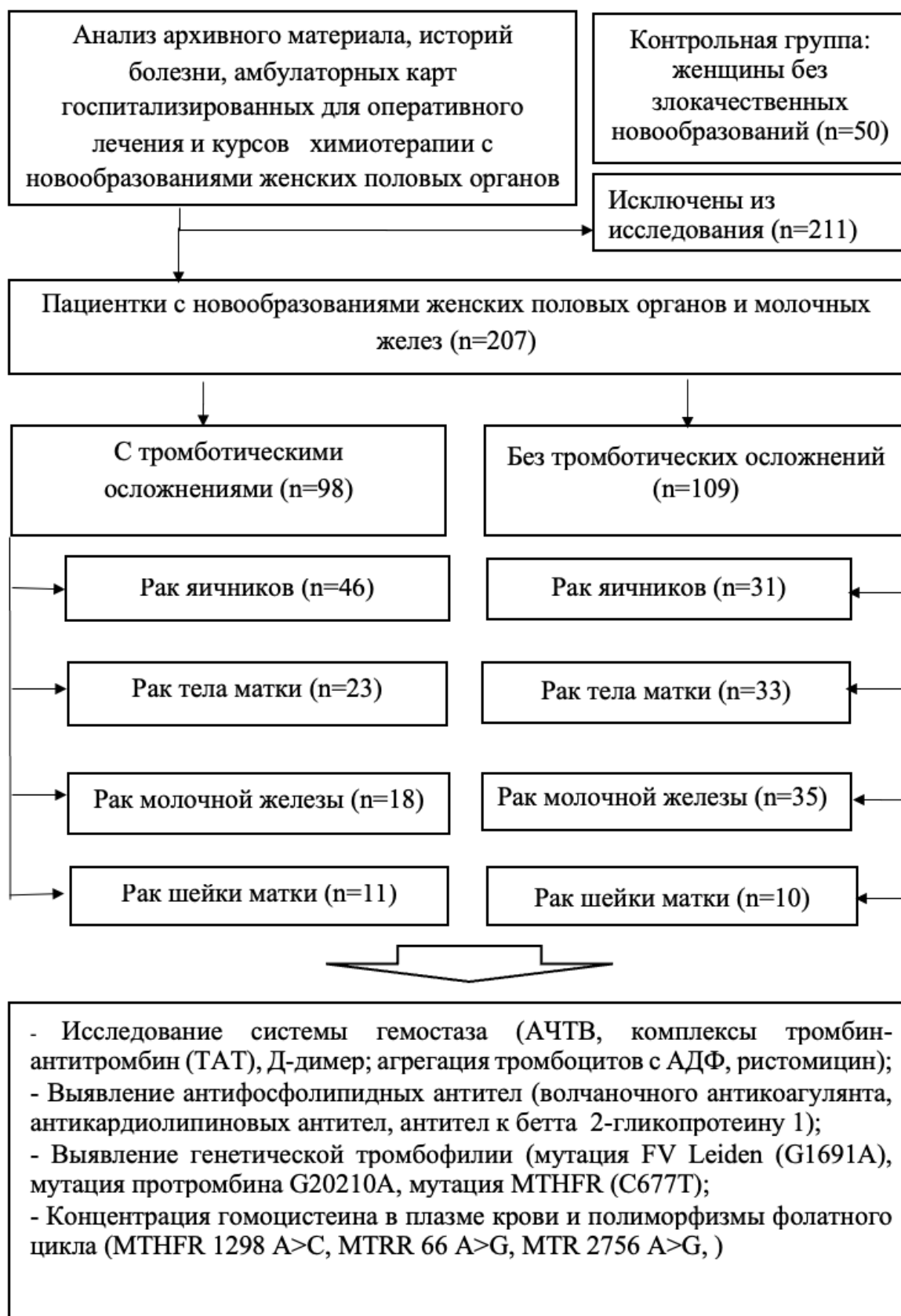


Схема 2 – Дизайн исследования в ретроспективной группе

Результаты исследования и их обсуждение

В проведенном исследовании освещен широкий спектр вопросов, связанных с системой гемостаза и процессами тромбовоспаления у онкогинекологических пациенток. Выявлены зависимости и причинно-следственные связи, объединяющие воспаление, тромбоз, прогрессию опухоли у онкогинекологических пациенток. Для осуществления поставленных задач с определением максимально широкого спектра показателей в исследование включены пациентки как проспективной, так и ретроспективной групп.

Для оценки интенсивности нетоза у онкогинекологических пациенток в проведенном нами исследовании были определены концентрации циркулирующих в плазме крови маркеров нетоза – антигена миелопероксидазы человека (MPO:Ag) и цитрулинированного гистона H3 (CitH3). Были выявленные достоверные различия в концентрации маркеров нетоза между онкологическими пациентками и участницами контрольной группами (Таблица 1).

Таблица 1 – Результаты обследования пациенток (средние \pm SD значения показателей у онкогинекологических пациенток и в контрольной группе, достоверность различий при $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой)

Показатели	Все подгруппы n=262	РТМ n = 81	РЯ n =85	РШМ n =15	РМЖ n = 81	Контроль группа n = 50
Д-димер, $\mu\text{г/мл}$	1,74 \pm 0,69 $p < 0,05$	1,74 \pm 0,58 $p < 0,05$	2,04 \pm 0,72 $p < 0,05$	1,43 \pm 0,6 $p < 0,05$	1,59 \pm 0,69 $p < 0,05$	0,38 \pm 0,13
ТАТ, пг/мл	726,14 \pm 134,16 $p < 0,05$	6819,41 \pm 135,23 $p < 0,05$	809,29 \pm 155,47 $p < 0,05$	636,15 \pm 149,45 $p < 0,05$	699,63 \pm 165,68 $p < 0,05$	362,3 \pm 30,15
citH3, нг/мл	1,78 \pm 1,03 $p < 0,05$	2,62 \pm 0,67 $p < 0,05$	2,04 \pm 0,8 $p < 0,05$	2,31 \pm 0,8 $p < 0,05$	0,76 \pm 0,57 $p < 0,05$	0,33 \pm 0,13
VWF:Ag, МЕ/мл (n=0,5-1,5)	1,94 \pm 0,64 $p < 0,05$	2,53 \pm 0,48 $p < 0,05$	1,98 \pm 0,6 $p < 0,05$	1,87 \pm 0,8 $p < 0,05$	1,51 \pm 0,33 $p < 0,05$	0,93 \pm 0,37
MPO:Ag, нг/мл	15,97 \pm 11,83 $p < 0,05$	29,46 \pm 13,11 $p < 0,05$	13,36 \pm 3,94 $p < 0,05$	21,22 \pm 10,0 $p < 0,05$	6,57 \pm 2,72 $p < 0,05$	2,45 \pm 0,2
ADAMTS-13:Ак, МЕ/мл (n=0,4-1,3)	0,43 \pm 0,13 $p < 0,05$	0,35 \pm 0,06 $p < 0,05$	0,49 \pm 0,15 $p < 0,05$	0,50 \pm 0,14 $p < 0,05$	0,43 \pm 0,09 $p < 0,05$	0,88 \pm 0,29
ADAMTS-13:Инг (n<15 МЕ/мл)	5,0 \pm 2,17 $p < 0,05$	4,95 \pm 1,98 $p < 0,05$	6,35 \pm 2,76 $p < 0,05$	4,91 \pm 1,78 $p < 0,05$	5,21 \pm 2,13 $p < 0,05$	0,25 \pm 0,17
ADAMTS-13:Ag, МЕ/мл (n=0,4-1,41)	0,40 \pm 0,12 $p < 0,05$	0,31 \pm 0,05 $p < 0,05$	0,46 \pm 0,14 $p < 0,05$	0,47 \pm 0,13 $p < 0,05$	0,39 \pm 0,1 $p < 0,05$	0,98 \pm 0,34
ИЛ-8, пг/мл	71,3 \pm 25,57 $p < 0,05$	105,44 \pm 26,19 $p < 0,05$	56,05 \pm 17,02 $p < 0,05$	91,7 \pm 35,77 $p < 0,05$	30,83 \pm 12,70 $p < 0,05$	12,78 \pm 5,58
Антитела к $\beta 2$ GP1 (кол-во пациенток)	83 (31,7%) $p > 0,05$	19 (23,4%) $p > 0,05$	37 (43,5%) $p < 0,05$	5 (33,3%) $p > 0,05$	22 (27,1%) $p > 0,05$	9 (18%)

Максимальные значения маркеров нетоза имели пациентки с аденокарциномой тела и шейки матки (Рисунки 1 и 2). Вероятнее всего, различные опухоли неодинаково способны стимулировать нетоз.

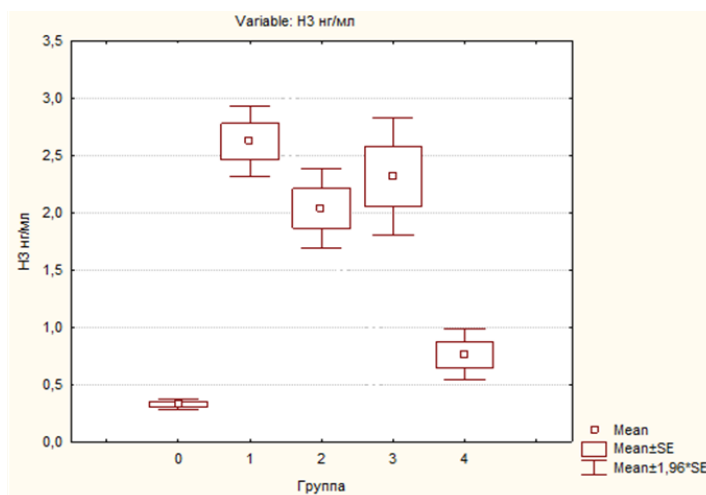


Рисунок 1 – Концентрация CitH3 гистона у пациенток из подгрупп рак тела матки (1), рак яичников (2), рак шейки матки (3), рак молочной железы (4) и пациенток контрольной группы (0)

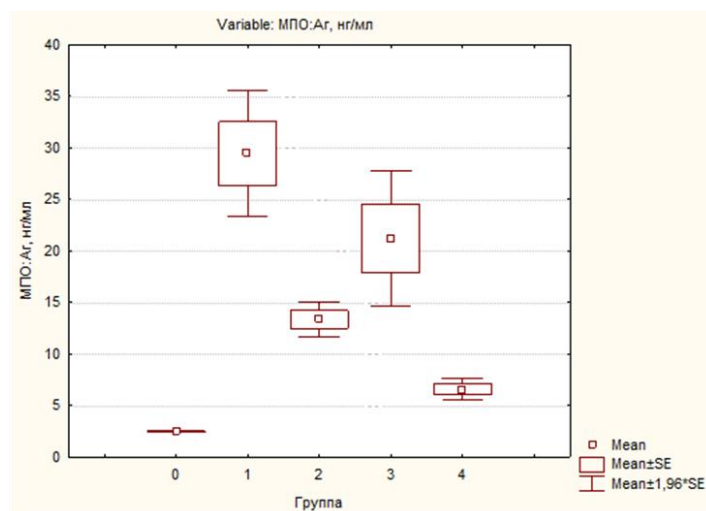


Рисунок 2 – Концентрация MPO:Ag у пациенток из подгрупп рак тела матки (1), рак яичников (2), рак шейки матки (3), рак молочной железы (4) и пациенток контрольной группы (0)

Выявлены достоверные различия в концентрации citH3 гистона среди пациенток на стадиях 1 TNM и на стадиях 2–3 стадиях TNM (Рисунок 3).

Достоверных различий в концентрации MPO:Ag среди пациенток на стадии 1 и на стадиях 2–3 TNM выявлено не было.

При анализе показателей пациенток, вошедших в исследуемые группы, лейкоцитоз (количество лейкоцитов более 10 000/мкл) до начала терапии наблюдался у 18,3% (48 пациенток из 262). Был определен порог отсечения – оптимальное пороговое значение количества

лейкоцитов, которое составило $7 \times 10^9/\text{л}$. Количество лейкоцитов $>7 \times 10^9/\text{л}$ коррелировало со стадией TNM ($P < 0,001$) (Таблица 2).

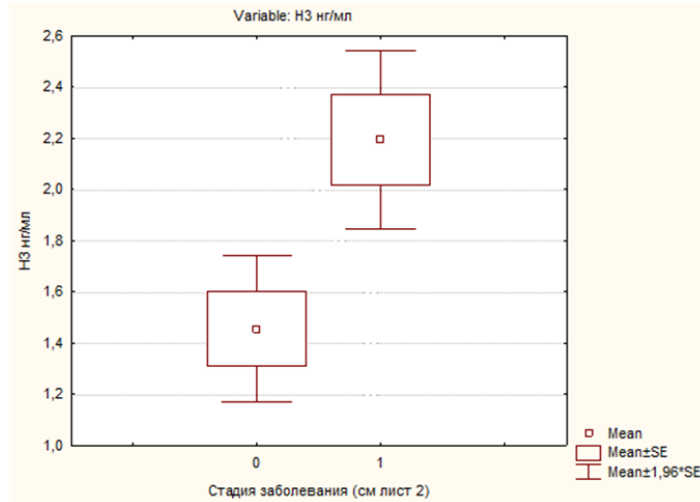


Рисунок 3 – Концентрация citH3 гистона у пациенток на стадии 1 TNM (0) и на стадии 2–3 (1)

Таблица 2 – Количество лейкоцитов в зависимости от стадии заболевания

Показатель	Количество пациенток (%) n=262	Количество лейкоцитов		P
		Менее $7 \times 10^9/\text{л}$, % n=201	Более $7 \times 10^9/\text{л}$, % n=61	
Стадия TNM				
I	99 (37,7)	76 (37,8)	7 (11,5)	<0,001
II	100 (38,2)	66 (32,8)	21 (34,4)	
III	63 (24,0)	59 (29,4)	33 (54,1)	

Концентрация МРО:Аг у пациенток с количеством лейкоцитов до начала терапии в плазме крови более $7 \times 10^9/\text{л}$ была значительно выше, чем у пациентов с количеством лейкоцитов менее $7 \times 10^9/\text{л}$ (Рисунок 4).

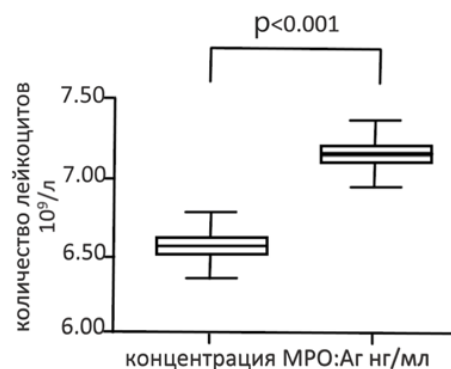


Рисунок 4 – Взаимосвязь между количеством лейкоцитов и концентрацией МРО:Аг

В проведенном нами исследовании мы оценили концентрацию ИЛ-8 и его возможные корреляции с маркерами нетоза у онкогинекологических пациенток. ИЛ-8 представляет собой многофункциональный воспалительный медиатор, хемокин. Концентрация ИЛ-8 была значительно повышена среди онкогинекологических пациенток ($71,3 \pm 25,57$ пг/мл), по сравнению с контрольной группой $12,78 \pm 5,58$ пг/мл (Таблица 1, Рисунок 5).

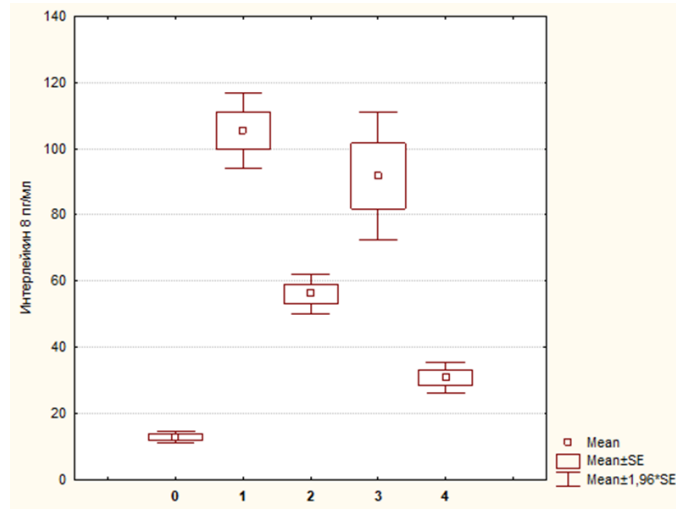


Рисунок 5 – Концентрация ИЛ-8 в плазме крови (1 – рак тела матки, 2 – рак яичников, 3 – рак шейки матки, 4 – рак молочной железы; 0 – контрольная группа)

Корреляционный анализ выявил достоверные зависимости между концентрацией ИЛ-8 и маркерами нетоза (citH3 и МПО:Аг). В подгруппах пациенток с раком тела матки и раком яичников корреляция определялась между ИЛ-8 и обоими маркерами нетоза (Таблицы 3 и 4), в подгруппах пациенток с опухолями шейки матки и молочной железы корреляционная зависимость выявлена между ИЛ-8 и МПО:Аг (Таблица 5 и 6).

Таблица 3 – Корреляционный анализ концентраций маркеров нетоза (citH3 и МПО:Аг) и ИЛ-8 у пациенток с опухолями тела матки (жирным шрифтом выделены значения $p < 0,01$)

	Интерлейкин 8, пг/мл	CitH3, нг/мл	МПО:Аг, нг/мл
Интерлейкин 8, пг/мл	1,00	0,74	0,84
CitH3, нг/мл	0,74	1,00	0,59
МПО:Аг, нг/мл	0,84	0,59	1,00

Таблица 4 – Корреляционный анализ концентраций маркеров нетоза (citH3 и МПО:Аг) и ИЛ-8 у пациенток с опухолями яичников (жирным шрифтом выделены значения $p < 0,01$)

	Интерлейкин 8, пг/мл	CitH3, нг/мл	МПО:Аг, нг/мл
Интерлейкин 8, пг/мл	1,00	0,73	0,89
CitH3, нг/мл	0,73	1,00	0,60
МПО:Аг, нг/мл	0,89	0,60	1,00

Таблица 5 – Корреляционный анализ концентраций маркеров нетоза (citH3 и МРО:Аг) и ИЛ-8 у пациенток с опухолями шейки матки (жирным шрифтом выделены значения $p < 0,01$)

	Интерлейкин 8, пг/мл	CitH3, нг/мл	МРО:Аг, нг/мл
Интерлейкин 8, пг/мл	1,00	0,58	0,79
CitH3, нг/мл	0,58	1,00	0,82
МРО:Аг, нг/мл	0,79	0,82	1,00

Таблица 6 – Корреляционный анализ концентраций маркеров нетоза (citH3 и МРО:Аг) и ИЛ-8 у пациенток с опухолями молочной железы (жирным шрифтом выделены значения $p < 0,01$)

	Интерлейкин 8, пг/мл	CitH3, нг/мл	МРО:Аг, нг/мл
Интерлейкин 8, пг/мл	1,00	0,27	0,74
CitH3, нг/мл	0,27	1,00	0,37
МРО:Аг, нг/мл	0,74	0,37	1,00

ИЛ-8 служит мощным индуктором нетоза, именно поэтому он был выбран для анализа в нашем исследовании. ИЛ-8 является ключевым фактором проонкогенных эффектов NETs. Мы предположили, что ИЛ-8 запускает нетоз у онкогинекологических пациенток. Наши результаты демонстрируют корреляционную зависимость между концентрацией маркеров нетоза и концентрацией ИЛ-8. В проведенном нами исследовании было показано, что повышенные концентрации циркулирующего ИЛ-8 были отмечены на фоне активного нетоза. Оба этих процесса были более выражены у пациенток на поздних стадиях заболевания. В основе данной зависимости, возможно, лежит захват сетями опухолевых клеток, что защищает их от иммунного контроля с последующей опухолевой экспрессией ИЛ-8, которая привлекает большее количество нейтрофилов и далее активирует нетоз.

В проспективной группе проведена оценка концентрации маркеров активации системы гемостаза (Д-димера и ТАТ). Результаты исследования демонстрировали достоверное повышение концентрации маркеров активации гемостаза у всех онкологических пациенток по сравнению с контрольной группой. При этом повышение зависело от стадии заболевания, и с ростом стадии концентрации маркеров росли.

Подобный рост в зависимости от стадии присутствовал также и у концентраций маркеров нетоза и ИЛ-8 во всех подгруппах основной группы онкологических пациенток (Таблица 1, Рисунок 6). Выявлена достоверная корреляция между повышением концентрации комплексов тромбин-антитромбин и концентрацией citH3 и МРО:Аг (Таблица 7, Таблица 8). Отсутствие корреляции между повышением концентрации маркеров нетоза и Д-димером, возможно, связаны с тем, что NETs усиливают структурные изменения в фибрине, делая его устойчивее к фибринолизу, а значит, и к росту продуктов этого фибринолиза – Д-димеров.

Таблица 7 – Корреляция между концентрацией маркеров нетоза и концентрацией ТАТ и Д-димера

Показатель	ТАТ (пг/мл)		Д-димер $\mu\text{г/мл}$	
	R	p	r	p
Концентрация CitH3, нг/мл	0,585644	p=0,04	0,415624	p > 0,05
Концентрация МРО:Аг, нг/мл	0,630720	p=0,04	0,472069	p > 0,05

Таблица 8 – Коэффициент ранговой корреляции Спирмена

Коэффициент ранговой корреляции Спирмена p <,04000				
	ТАТ, пг/мл	Д-димер, нг/мл	CitH3, нг/мл	МРО:Аг, нг/мл
ТАТ, пг/мл	1,00	0,90	0,59	0,63
Д-димер, $\mu\text{г/мл}$	0,90	1,00	0,42	0,47
CitH3, нг/мл	0,59	0,42	1,00	0,82
МРО:Аг, нг/мл	0,63	0,47	0,82	1,00



Рисунок 6 – Динамика маркеров воспаления, активации гемостаза и нетоза у пациенток подгруппы рак тела матки в зависимости от стадии заболевания. В остальных трех подгруппах отмечена аналогичная динамика

По-новому нам удалось взглянуть на приобретенную тромбофилию у онкогинекологических пациенток, выявить взаимосвязи между циркуляцией антифосфолипидных антител и процессами тромбовоспаления. Антитела к бета 2 гликопротеину 1 выявлялись в подгруппе рак яичников достоверно у большего количества пациенток (у 37 (43,5%) из 85) по сравнению с группой контроля (у 9 (18%) из 50, $p > 0,05$). В остальных подгруппах достоверных различий отмечено не было (Таблица 1), что могло быть связано как с небольшой выборкой пациенток, так и с отсутствием возможности оценить весь спектр антифосфолипидных антител, как «критериальных», так и «некритериальных». При проведении корреляционного анализа была выявлена достоверная корреляция между циркуляцией антител к бета 2 гликопротеину 1 и концентрацией МРО:Аг у пациенток подгруппы рак яичников (Рисунок 7, Таблица 9). На основании полученных данных можно предполагать, что антифосфолипидные антитела, формирующиеся у онкогинекологических пациенток, могут явиться одним из триггеров нетоза. Нетоз сам по себе вносит вклад в развитие тромботических событий и стимулирует дальнейший синтез антифосфолипидных антител. Далее эти два процесса, взаимно усиливая друг друга, способствуют созданию протромботического состояния. До настоящего времени патогенетического лечения антифосфолипидного синдрома (АФС) не существует, и современные методы лечения сфокусированы на антикоагулянтной терапии. Дальнейшее изучение маркеров нетоза может быть эффективным в выработке стратегии по предотвращению тромбоза при раке, а также обеспечит эффективный сдвиг в области терапии АФС.

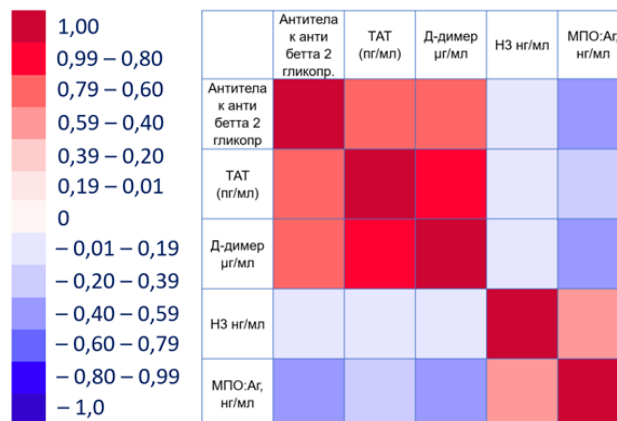


Рисунок 7 – Корреляционная зависимость в подгруппе рак яичников между маркером нетоза МРО:Аг и циркуляцией антител к бета 2 гликопротеину 1

Оперативному лечению в проспективной группе подверглась 209 пациенток (подгруппа рак тела матки $n = 78$, подгруппа рак яичников $n=53$, подгруппа рак шейки матки $n=10$, подгруппа рак молочной железы $n=68$). Химиотерапия проведена 53 пациенткам: адьювантная химиотерапия проведена 30 пациенткам, неоадьювантная – 23 пациенткам. На момент

поступления в стационар у всех онкологических пациенток во всех группах заболеваний концентрации маркеров нетоза (CitH3 и МРО:Аг) были повышены и достоверно отличались от контрольной группы (Таблица 1). У пациенток с послеоперационном периоде достоверных различий с дооперационными значениями концентрации маркеров нетоза и активации гемостаза выявлено не было (Таблица 10), однако, средние значения показателей имели тенденцию к снижению. Через 14 дней после 2 курса химиотерапии отмечено достоверное повышение концентрации маркеров нетоза (Таблица 11).

Таблица 9 – Корреляция между концентрацией маркеров нетоза, маркеров активации гемостаза и циркуляцией антител к бета 2 гликопротеину 1 (уровень значимости $p \leq 0,01$)

Показатель	Антитела к бета 2 гликопротеину 1 (+/-)	ТАТ, пг/мл	Д-димер, мкг/мл	CitH3, нг/мл	МРО:Аг, нг/мл
Антитела к бета 2 гликопротеину 1 (+/-)	1,00	0,64	0,66	-0,09	-0,47
ТАТ, пг/мл	0,64	1,00	0,80	-0,01	-0,35
Д-димер, мкг/мл	0,66	0,80	1,00	-0,07	-0,41
CitH3, нг/мл	-0,09	-0,01	-0,07	1,00	0,44
МРО:Аг, нг/мл	-0,47	-0,35	-0,41	0,44	1,00

Таблица 10 – Концентрация маркеров нетоза и активации гемостаза у онкологических пациенток до операции и через 14 дней после оперативного лечения (n=209)

Показатель	n=209		Значимость различий (p) контрольной группой (Wilcoxon Matched Pairs Test)
	до операции	после операции	
CitH3 гистон, нг/мл, M±SD	2,09±1,05	1,98±1,0	0,0209
МРО:Аг, нг/мл, M±SD	20,3±13,06	16,50±12,37	0,0714
ТАТ, пг/мл, M±SD	726,14±134,16	697,6±128,1	> 0,05
Д-димер, мкг/мл, M±SD	1,74±0,69	1,34±0,51	> 0,05

Таблица 11 – Концентрация маркеров нетоза и активации гемостаза у онкологических пациенток до и через 14 дней после 2 курса химиотерапии (n=53)

Показатель	n=53		Значимость различий (p) контрольной группой (Wilcoxon Matched Pairs Test)
	до химиотерапии	после химиотерапии	
CitH3 гистон, нг/мл, M±SD	1,23±0,71	2,46±1,24	0,0001
МРО:Аг, нг/мл, M±SD	16,02±4,36	22,76±7,31	0,0001
ТАТ, пг/мл, M±SD	726,14±134,16	1210,35±98,97	≤ 0.05
Д-димер, мкг/мл, M±SD	1,74±0,69	2,985±2,45	≤ 0.05

Результаты исследования демонстрируют достоверно более выраженный рост концентрации NETs у пациенток после химиотерапии по сравнению с пациентками после

оперативного лечения, что может быть основой гипотезы о том, что нетоз – это один из процессов, лежащих в основе протромботического состояния при проведении химиотерапии, а также возможной причиной неэффективности и резистентности к терапии. В связи с этим, необходимо рассмотреть целесообразность мониторинга нетоза на фоне проведения химиотерапии с целью прогнозирования и возможного улучшения в будущем ответа на терапию, а также снижения частоты осложнений.

Учитывая рост показателей концентрации маркеров нетоза и маркеров активации системы гемостаза у пациенток через 14 дней после 2 курса химиотерапии, всем пациенткам было решено начать использование низкомолекулярного гепарина. При этом группа пациенток химиотерапии была разделена на две подгруппы, в одной из которых к низкомолекулярному гепарину был добавлен противовоспалительный компонент терапии, в роли которого был выбран аспирин в дозе 325 мг в сутки. Таким образом, пациентки были разделены на две подгруппы: 1 – подгруппа НМГ и 2 – подгруппа НМГ + аспирин. С целью рандомизации был выбран критерий наличия хронического гастрита, диагностированного или имеющегося в анамнезе до начала терапии. Соответственно, в 1 подгруппе из 25 пациенток с хроническим гастритом использовали НМГ, а у 28 пациенток 2 группы без установленного ранее диагноза хронического гастрита использовали сочетание НМГ + аспирин. Повторная динамическая оценка показателей проводилась через 14 дней после 4 и 6 курсов химиотерапии. Общая продолжительность использования препаратов в 2 подгруппах пациентками в исследовании составила 15 недель.

Анализ полученных данных через 2 недели после 4 курса химиотерапии показал, что в подгруппе пациенток ($n=25$), использовавших НМГ, произошло достоверное снижение концентрации как маркеров нетоза (CitH3 гистон $1,35\pm 0,36$ нг/мл, МРО:Аг $17,54\pm 3,29$ нг/мл, $p<0,05$), так и маркеров активации гемостаза (ТАТ $894,58\pm 112,23$ пг/мл, Д-димер $1,81\pm 0,73$ мкг/мл $p<0,05$). В подгруппе пациенток, принимавших НМГ + аспирин ($n=28$), также было отмечено достоверное снижение концентрации маркеров нетоза (CitH3 гистон $1,15\pm 0,36$ нг/мл, МРО:Аг $15,12\pm 4,28$ нг/мл, $p<0,05$), так и маркеров активации гемостаза (ТАТ $868,23\pm 103,25$ пг/мл, Д-димер $1,69\pm 0,52$ мкг/мл $p<0,05$). При сравнении показателей двух подгрупп достоверных различий выявлено не было при том, что средние значения у пациенток подгруппы НМГ + аспирин были ниже, чем в подгруппе НМГ.

Анализ полученных данных через 2 недели после 6 курса химиотерапии показал, что в обеих подгруппах продолжалась тенденция к снижению концентрации маркеров нетоза (CitH3 гистон $1,12\pm 0,54$ нг/мл, МРО:Аг $16,03\pm 0,24$ нг/мл, подгруппа НМГ, CitH3 гистон $0,98\pm 0,61$ нг/мл, МРО:Аг $13,31\pm 0,69$ нг/мл, подгруппа НМГ + аспирин) и активации гемостаза (ТАТ $753,11\pm 112,03$ пг/мл, Д-димер $1,52\pm 0,48$ мкг/мл, подгруппа НМГ, ТАТ $597,24\pm 122,54$ пг/мл, Д-димер $1,38\pm 0,71$ мкг/мл, подгруппа НМГ + аспирин), однако достоверных отличий, от показателей, полученных

после 4 курса, выявлено не было ($p>0,05$). Между подгруппами сохранялась прежняя закономерность, а именно, в подгруппе НМГ + аспирин средние значения были ниже, чем в подгруппе НМГ, однако, различия были статистически не значимыми ($p>0,05$). По-видимому, эффективность добавления аспирина все же имела место, однако в связи с нечувствительностью к препарату около 40% населения, при размерах выборки количества пациенток оказалось недостаточным для подтверждения патогенетической значимости. Кроме этого, в данном случае имела место лишь попытка сочетания терапии НМГ с противовоспалительным агентом, в роли которого был введен аспирин.

Не до конца понятно, какие именно патогенетические механизмы могут позволить аспирину реализовывать свою эффективность в отношении нетоза у онкогинекологических пациенток. Аспирин необратимо ингибирует циклооксигеназу (ЦОГ), снижая тем самым синтез простаноидов из арахидоновой кислоты. ЦОГ-1 отвечает за синтез ТХА₂ в тромбоцитах и базальную продукцию цитопротекторных простагландинов в слизистой оболочке желудка. ЦОГ-2 в норме не экспрессируется большинством клеток, кроме эндотелия. Однако, ЦОГ-2 определяется во многих опухолевых клетках. Какая часть эффекта аспирина при приеме в дозе 325 мг в сутки может быть связана с его влиянием на тромбоциты, какая на ЦОГ эндотелия, опухолевых клеток, а какая на интенсивность нетоза требует дальнейших исследований. В последующих исследованиях могут быть использованы другие более современные противовоспалительные препараты, с большей эффективностью.

В последние годы все больше уделяется внимания функционированию оси ADAMTS-13/VWF, не только в онкологии, но и в акушерстве, при неотложных состояниях и даже во время прошедшей пандемии COVID-19. В проведенном нами исследовании, при оценке концентрации фактора фон Виллебранда (VWF:Ag), антигена (ADAMTS-13:Ag), отношения VWF/ADAMTS-13:Ag и активности ADAMTS-13 (ADAMTS-13:Ак) было показано, что концентрация VWF:Ag у онкогинекологических пациенток была повышена на фоне снижения концентрации антигена и активности ADAMTS-13 ($p<0,0001$) (Таблица 1).

При определении концентрации VWF:Ag у большей части онкогинекологических пациенток было выявлено повышение концентрации. Максимальная концентрация показателя определена в подгруппе рак тела матки и составила $2,53\pm 0,48$ МЕ/мл. В контрольной группе концентрация VWF была $0,93\pm 0,37$ МЕ/мл при норме 0,5–1,5 МЕ/мл. Среднее значение VWF для онкогинекологических пациенток было $1,94\pm 0,64$ МЕ/мл (Таблица 1, Рисунок 8).

Среди онкогинекологических пациенток наиболее низкая концентрация ADAMTS-13:Ag выявлена в подгруппе больных рак тела матки ($0,31\pm 0,05$ МЕ/мл). Средняя концентрация ADAMTS-13:Ag среди онкогинекологических пациенток составила $0,40\pm 0,12$ МЕ/мл. При сравнении показателей между подгруппами заболеваний достоверных различий выявлено не

было. В контрольной группе средняя концентрация ADAMTS-13:Аг составила $0,98 \pm 0,34$ МЕ/мл (при норме от 0,4 до 1,41 МЕ/мл, согласно данным производителя тест-системы). Активность ADAMTS-13:Ак была в среднем минимальная у пациенток подгруппы рак тела матки $0,35 \pm 0,06$ МЕ/мл. В целом ADAMTS-13:Ак достоверно не отличалась в подгруппах онкогинекологических пациентов, достоверно отличаясь от контрольной группы, где ее показатель составил $0,88 \pm 0,29$ МЕ/мл. При определении уровня ингибитора ADAMTS-13 у всех онкогинекологических пациенток были получены значения, превышающие показатели контрольной группы. Максимальный уровень ингибитора ADAMTS-13 определен у пациенток подгруппы рак яичников $6,21 \pm 2,11$ МЕ/мл. В контрольной группе уровень ингибитора ADAMTS-13 составил $0,25 \pm 0,17$ МЕ/мл, при этом у всех пациенток концентрация находилась в пределах нормы. (Таблица 1, Рисунки 9, 10).

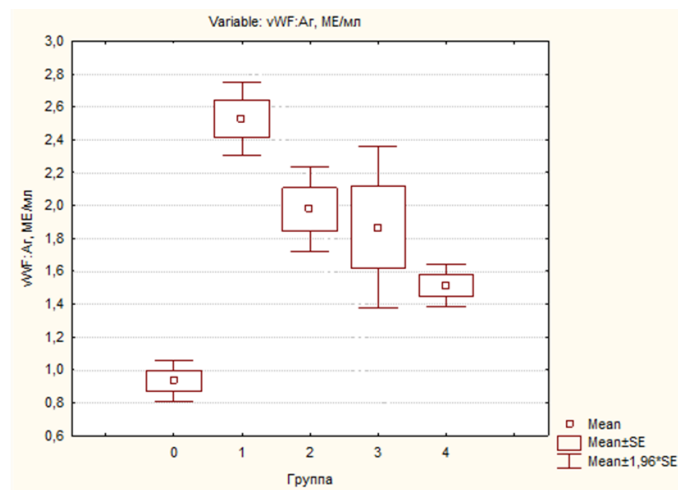


Рисунок 8 – Концентрация VWF:Аг у пациенток подгрупп рак тела матки (1), рак яичников (2), рак шейки матки (3), рак молочной железы (4) и пациенток контрольной группы (0)

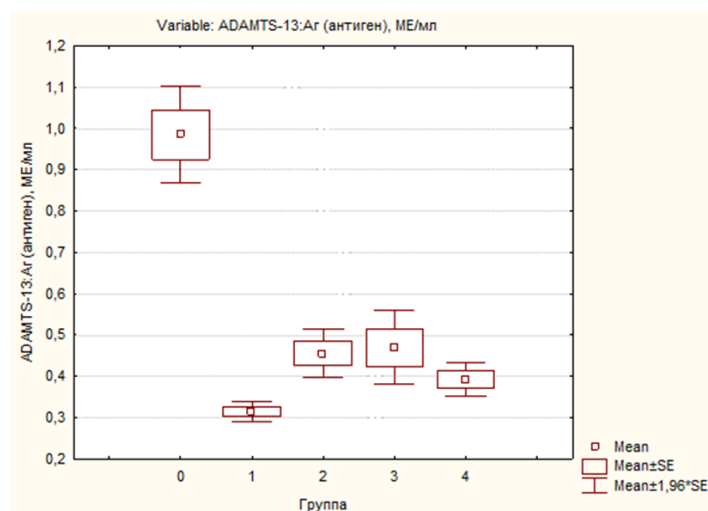


Рисунок 9 – Концентрация ADAMTS-13:Аг у пациенток подгрупп рак тела матки (1), рак яичников (2), рак шейки матки (3), рак молочной железы (4) и пациенток контрольной группы (0)

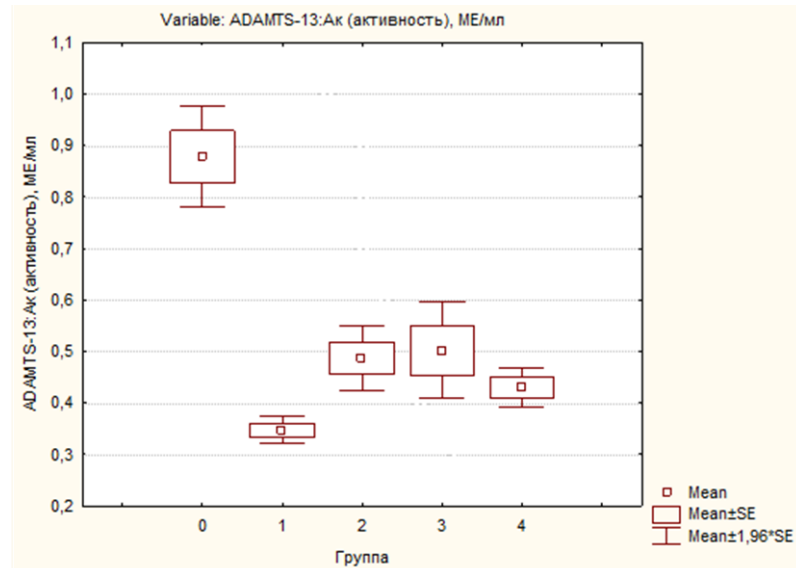


Рисунок 10 – Активность ADAMTS-13:Ак у пациенток из группы рак тела матки (1), рак яичников (2), рак шейки матки (3), рак молочной железы (4) и пациенток контрольной группы (0)

Отмечены достоверные различия в концентрации VWF:Аг среди пациенток на стадии 1 TNM и на стадиях 2–3. Достоверных различий при оценке ADAMTS-13:Аг и ADAMTS-13:Ак и ADAMTS-13:Инг среди пациенток на стадии 1 и на стадиях 2–3 TNM выявлено не было (Рисунок 11).

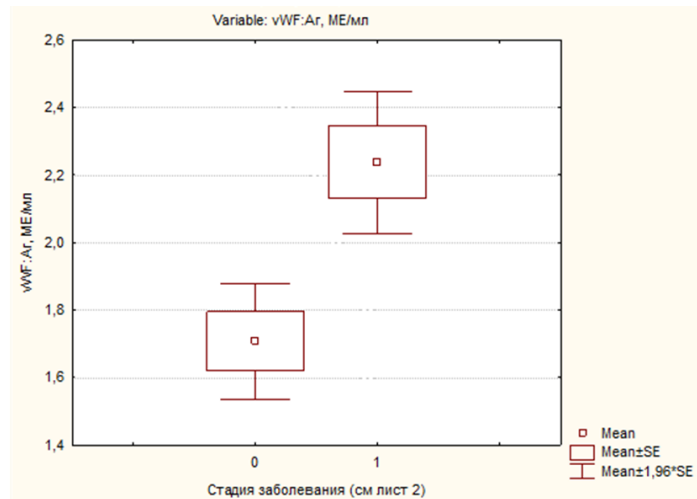


Рисунок 11 – Концентрация VWF:Аг у пациенток на стадии 1 TNM (0) и на стадии 2–3 TNM (1)

Корреляционный анализ показал, что только среди пациенток подгруппы рак яичников с увеличением концентрации MPO:Аг снижаются ADAMTS-13:Ак ($\rho = -0,58$, $p < 0,01$) и ADAMTS-13:Аг ($\rho = -0,60$, $p < 0,01$), а также с увеличением концентрации CitH3 нг/мл снижаются ADAMTS-13:Ак ($\rho = -0,62$, $p < 0,01$) и ADAMTS-13:Аг ($\rho = -0,69$, $p < 0,01$) (Таблица 12, Рисунок 12). При оценке корреляций в других группах онкологических пациенток достоверных показателей выявлено не было.

Таблица 12 – Концентрация маркеров нетоза, ADAMTS-13:Аг и ADAMTS-13:Ак в подгруппах проспективной группы

Показатели	Все подгруппы n=262	РТМ n = 81	РЯ n =85	РШМ n =15	РМЖ n = 81	Контроль группа n = 50
citH3, нг/мл	1,78±1,03	2,62±0,67	2,04±0,8	2,31±0,8	0,76±0,57	0,33±0,13
МРО:Аг, нг/мл	15,97±11,83	29,46±13,11	13,36±3,94	21,22±10,0	6,57±2,72	2,45±0,2
ADAMTS-13:Ак, МЕ/мл (n=0,4–1,3)	0,43±0,13	0,35±0,06	0,49±0,15	0,50±0,14	0,43±0,09	0,88±0,29
ADAMTS-13:Аг, МЕ/мл (n=0,4–1,41)	0,40±0,12	0,31±0,05	0,46±0,14	0,47±0,13	0,39±0,1	0,98±0,34

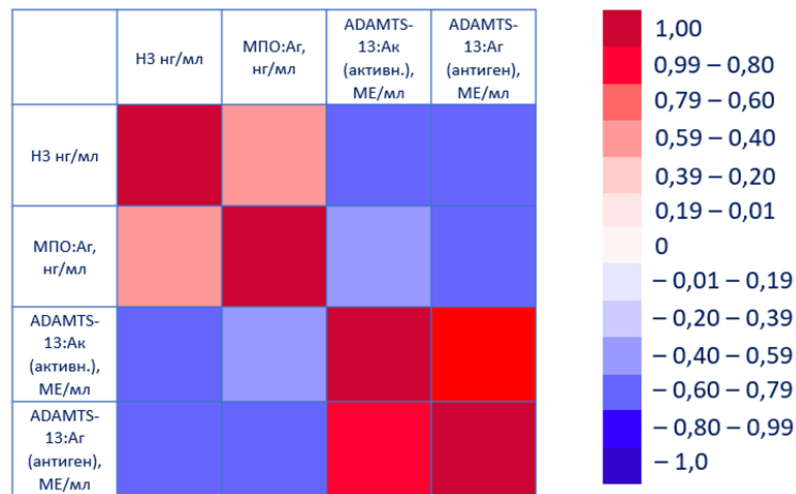


Рисунок 12 – Корреляция Спирмена между показателями citH3, МРО:Аг, ADAMTS-13:Аг, ADAMTS-13:Ак в группе рак яичников

Корреляционный анализ во всех подгруппах показал, что с увеличением концентрации CitH3 нг/мл повышается концентрация VWF:Аг ($\rho = 0,80$, $p < 0,01$) и МРО:Аг, нг/мл ($\rho = 0,87$, $p < 0,01$); с увеличением концентрации МРО:Аг увеличивается концентрация VWF:Аг, МЕ/мл ($\rho = 0,70$, $p < 0,01$), с увеличением концентрации VWF:Аг, МЕ/мл снижаются ADAMTS-13:Ак ($\rho = -0,43$, $p < 0,01$) и ADAMTS-13:Аг ($\rho = -0,42$, $p < 0,01$) (Рисунок 13, Таблица 12).

Наиболее выражено зависимость продемонстрирована в подгруппе рак яичников. Корреляционный анализ среди пациенток данной подгруппы показал, что с увеличением концентрации CitH3 нг/мл повышается концентрация VWF:Аг ($\rho = 0,76$, $p < 0,01$); с увеличением концентрации VWF:Аг снижается ADAMTS-13:Ак ($\rho = -0,84$, $p < 0,01$) и ADAMTS-13:Аг ($\rho = -0,86$, $p < 0,01$), с увеличением концентрации CitH3 нг/мл снижается ADAMTS-13:Ак ($\rho = -0,62$, $p < 0,01$) и ADAMTS-13:Аг ($\rho = -0,62$, $p < 0,01$); с увеличением концентрации МРО:Аг, нг/мл снижается ADAMTS-13:Ак ($\rho = -0,58$, $p < 0,01$) и ADAMTS-13:Аг ($\rho = -0,60$, $p < 0,01$) (Рисунок 14).

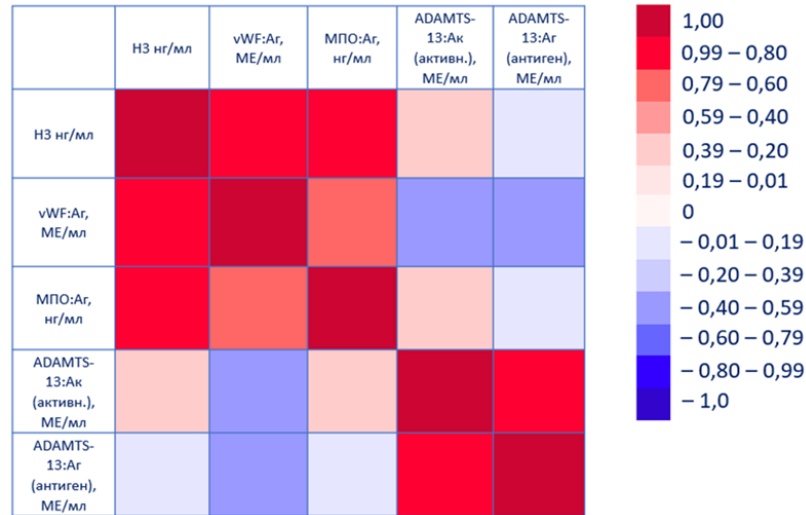


Рисунок 13 – Корреляция Спирмена между показателями citH3, VWF:Ag, MPO:Ag, ADAMTS-13:Ag, ADAMTS-13:Ак для онкогинекологических пациенток

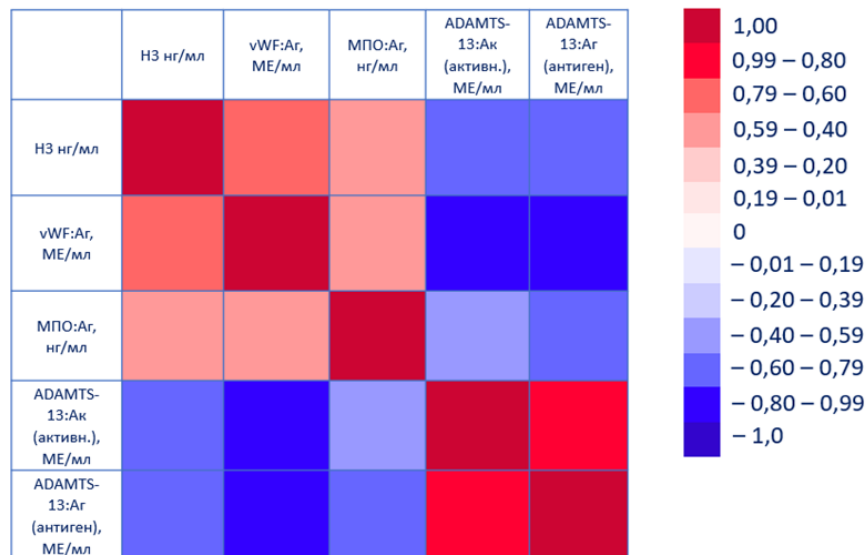


Рисунок 14 – Корреляция Спирмена между переменными НЗ, VWF:Ag, MPO:Ag, ADAMTS-13:Ag, ADAMTS-13:Ак в группе пациенток рак яичников

Корреляционный анализ среди пациенток группы рак шейки матки показал корреляцию между концентрацией CitH3 нг/мл и концентрацией VWF:Ag ($\rho = 0,83, p < 0,01$) и MPO:Ag, нг/мл ($\rho = 0,84, p < 0,01$). Выявлена корреляционная зависимость в подгруппе рак молочной железы, где с увеличением концентрации CitH3 нг/мл повышалась концентрация VWF:Ag ($\rho = 0,74, p < 0,01$).

Оценка концентрации, активности ингибитора ADAMTS-13:Инг, концентрации VWF и отношения VWF/ADAMTS-13:Ag проводилась в проспективной группе дважды: до лечения и на 14 сутки после оперативного лечения или через 2 недели после 2 курса химиотерапии. При анализе динамики показателей было выявлено, что концентрация VWF:Ag, ADAMTS-13:Ag, ADAMTS-13:Ак, ингибитора ADAMTS-13:Инг, отношения VWF/ADAMTS-13:Ag, концентрация ТАТ и Д-димера достоверно не изменились до и после оперативного лечения на фоне

стандартной тромبوпрофилактики низкомолекулярным гепарином, при этом средние значения концентрации VWF:Аг, отношения VWF/ADAMTS-13:Аг имели тенденцию к снижению, а концентрации ADAMTS-13:Аг, ADAMTS-13:Ак, имели тенденцию к росту. Динамика показателей концентрации VWF:Аг, ADAMTS-13:Аг, ADAMTS-13:Ак, отношения VWF/ADAMTS-13:Аг, концентрация ТАТ, Д-димера и ингибитора ADAMTS-13:Инг через 14 дней после 2 курса после химиотерапии демонстрировала достоверные изменения. По результатам исследования были выявлены различия концентрации VWF:Аг, ADAMTS-13:Аг, ADAMTS-13:Ак, ингибитора ADAMTS-13:Инг, концентрация ТАТ, Д-димера и отношения VWF:Аг/ ADAMTS-13:Аг между группой оперативного лечения и химиотерапии. Динамика в группе после химиотерапии была более выражена по сравнению со значениями показателей в группе после оперативного лечения. Достоверно отличались между собой группы оперативного лечения и химиотерапии по таким показателям, как VWF:Аг, ADAMTS-13:Аг, концентрация ТАТ, Д-димера и отношения VWF:Аг / ADAMTS-13:Аг (Таблицы 13, 14). При проведении корреляционного анализа в группе пациенток после химиотерапии было показано, что рост концентрации VWF:Аг и показатель отношения VWF:Аг/ADAMTS-13:Аг достоверно были связаны с ростом концентрации комплексов тромбин-антитромбин ($p \leq 0,05$) (Таблица 15, Рисунок 14).

Таблица 13 – Динамика концентрации VWF:Аг, ADAMTS-13:Аг, ADAMTS-13:Ак, отношения VWF:Аг/ ADAMTS-13:Аг, ADAMTS-13:Инг, концентрации ТАТ, Д-димера у пациенток после оперативного лечения и химиотерапии по сравнению с исходными показателями

Показатель	До начала терапии (n=262)	После оперативного лечения (n=209)	После химиотерапии (n=53)
VWF:Аг, МЕ/мл, M±SD	1,94±0,64	1,81±0,23 (p> 0,05)	2,34±0,42 (p<0,05)
ADAMTS13:Аг, ЕД/мл, M±SD	0,40±0,12	0,55±0,11 (p> 0,05)	0,34±0,07 (p<0,05)
VWF:Аг/ADAMTS-13:Аг	4,39	4,05 (p> 0,05)	6,42 (p<0,05)
ADAMTS-13:Ак, ЕД/мл, M±SD	0,43±0,13	0,65±1,10 (p> 0,05)	0,39±2,17 (p≤ 0,05)
ADAMTS-13:Инг, МЕ/мл, M±SD	5,0±2,17	4,9±2,21 (p> 0,05)	7,28±2,34 (p<0,05)
ТАТ, пг/мл, M±SD	726,14±134,16	697,6±128,1 (p> 0,05)	1210,35±98,97 (p≤ 0,05)
Д-димер, мкг/мл, M±SD	1,74±0,69	1,34±0,51 (p> 0,05)	2,985±2,45 (p≤ 0,05)

Таблица 14 – Различия показателей VWF:Аг, ADAMTS-13:Аг, отношения VWF:Аг / ADAMTS-13:Аг, ADAMTS-13:Инг, ADAMTS-13:Ак концентрации ТАТ и Д-димера в группах оперативного лечения и химиотерапии

Показатель	После оперативного лечения (n=209)	После химиотерапии (n=53)	p
VWF:Аг, МЕ/мл, M±SD	1,81±0,53	2,34±0,42	0,001
ADAMTS-13:Аг, ЕД/мл, M±SD	0,55±0,11	0,34±0,07	0,001
ADAMTS-13:Ак, ЕД/мл, M±SD	0,65±1,10	0,39±2,17	>0,05
ADAMTS-13:Инг, МЕ/мл, M±SD	4,9±2,21	7,28±2,34	>0,05
VWF:Аг/ADAMTS-13:Аг	4,05	6,42	0,001
ТАТ, пг/мл, M±SD	697,6±128,1	1210,35±98,97	≤ 0,05
Д-димер, мкг/мл, M±SD	1,34±0,51	2,985±2,45	0,001

Таблица 15 – Корреляционная матрица между концентрацией ADAMTS-13:Аг, VWF:Аг, отношением VWF:Аг / ADAMTS-13:Аг и маркерами активации гемостаза (ТАТ и Д-димер) у пациенток после химиотерапии (по Спирмену) p≤0,05

	ТАТ, пг/мл	Д-димер, мкг/мл	VWF:Аг, МЕ/мл	ADAMTS-13:Аг, Ед/мл	Отношение VWF:Аг / ADAMTS-13:Аг
ТАТ, пг/мл	1,00	0,65	-0,38	0,11	-0,38
Д-димер, мкг/мл	0,65	1,00	-0,16	-0,11	-0,10
VWF:Аг, МЕ/мл	-0,38	-0,16	1,00	-0,26	0,84
ADAMTS-13:Аг, Ед/мл	0,11	-0,11	-0,26	1,00	-0,68
VWF:Аг/ADAMTS-13:Аг	-0,38	-0,10	0,84	-0,68	1,00

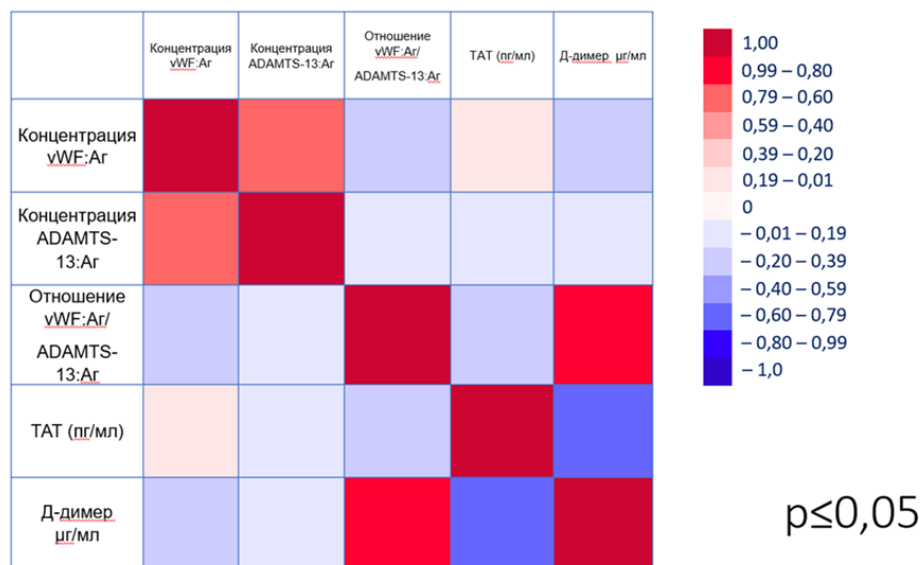


Рисунок 14 – Корреляция Спирмена между переменными

Таким образом, у пациенток на фоне химиотерапии с одной стороны снижается концентрация ADAMTS-13, с другой стороны из-за токсического действия на эндотелий

повышается концентрация VWF. Это означает, что агрегационный потенциал крови нарастает на фоне истощения компенсаторных возможностей к расщеплению мультимеров UL-WWF, что повышает риск тромбозов. Однако, не только токсическое действие препаратов приводило, по-видимому, к росту концентрации VWF:Аг, снижению ADAMTS-13:Ак и ADAMTS-13:Аг, но и активный нетоз. Одним из возможных механизмов является подавление за счет NETs активности ADAMTS-13 путем реакций окисления, цитруллинирования, протеолиза или конкурентного связывания с субстратом VWF A2, что ведет к увеличению концентрации антигена фактора Виллебранда, с последующим образованием мультимеров и их протромботическими эффектами. Таким образом, замыкается порочный круг, где опосредованный NETs дефицит ADAMTS-13 способствует образованию мультимеров VWF, которые, в свою очередь, привлекают и присоединяют больше активированных тромбоцитов, нейтрофилов и компонентов NETs к стенке сосуда, усугубляя воспаление и тромбоз.

В данном исследовании мы продемонстрировали, что концентрации VWF, ADAMTS-13, активность ADAMTS-13 и отношение VWF/ADAMTS-13 тесно связаны с активацией гемостаза у онкогинекологических пациенток. В рамках интегральной оценки рисков тромботических осложнений, а также прогнозирования течения заболевания у онкогинекологических пациенток возможно наряду с рутинными лабораторными тестами и стандартными шкалами эффективное использование таких новых маркеров, как маркеры нетоза, а также их сочетание с оценкой концентрации цитокинов, маркеров активации гемостаза, и показателя функционирования оси ADAMTS-13/VWF – отношения VWF/ADAMTS-13.

При анализе структуры ретроспективной группы пациенток было показано, что частота встречаемости мутации MTHFR C677T достоверно не отличалась между подгруппами онкологических пациенток с тромботическими осложнениями и без, а также в сравнении с контрольной группой (Таблицы 15 и 16). Для полиморфизма PAI-1 достоверных различий между группами выявлено не было. Значительные достоверные различия между группами были определены для мутации V Лейден и мутации протромбина. Так, мутация V Лейден G1691A у онкологических пациенток без тромбозов в гомозиготной форме не определялась ни у кого, а в гетерозиготной – у 5 (4,6%). Среди онкологических пациенток с тромбозами гомозиготный вариант AA был выявлен у 2 (2,0%), а в гетерозиготной GA – у 9 (9,2%). В контрольной группе гетерозиготная форма мутации была выявлена у одной пациентки 1 (2%) ($p < 0,001$). Мутация протромбина G20210A у пациенток без тромбозов в гомозиготной форме AA выявлена не была, в гетерозиготной GA выявлена у семи (6,4%). У онкологических пациенток с тромбозами гомозиготный вариант AA выявили у 2 (2,0%), гетерозиготный GA у 23 (23,5%), в контрольной группе у одной женщины определена гетерозиготная форма GA 1(2%), $p < 0,001$ (Таблицы 16 и 17).

Таблица 16 – Структура генетической тромбофилии в ретроспективной группе пациенток без тромботических осложнений

	Пациентки без тромботических осложнений (n=109)								Контрольная группа (n=50)	
	РЯ		РТМ		РМЖ		РШМ			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
	31	28,4	33	30,3	35	32,1	10	9,2		
Мутация С677Т пациентки без тромбоза СТ 41 (37,6%), ТТ 15 (13,8%); контроль СТ 17 (34%), ТТ 6 (12%), p>0,001										
СТ	12	38,7	11	33,3	15	42,8	3	30	17	34
ТТ	4	12,9	5	15,2	5	14,2	1	10	6	12
Мутация V Лейден G1691A пациентки без тромбозов AA 0 (0%), GA 5 (4,6%); контрольная группа 0 (0%) p<0,001										
AA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA	1	3,2	2	6,1	2	5,7	-	-	1	2
Мутация протромбина G20210A пациентки без тромбозов AA 0 (0%), GA 7(6,4%); контрольная группа GA 1(3%), p<0,001										
GA	1	3,2	2	6,1	3	8,6	1	10	1	2
AA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Полиморфизм PAI-1 4G/5G пациентки без тромбозов 4G/4G 3 (2,8%), 4G>5G 15(13,8%); контрольная группа 4G/4G 2(4%), 4G>5G 7(14%), p>0,001										
4G>5G	4	12,9	5	15,1	5	14,3	1	10	7	14

Таблица 17 – Структура генетической тромбофилии в ретроспективной группе пациенток с тромботическими осложнениями

	Пациентки с тромботическими осложнениями (n=98)								Контрольная группа (n=50)	
	РЯ		РТМ		РМЖ		РШМ			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
	46	46,9	23	23,5	18	18,4	11	11,2		
Мутация С677Т пациентки с тромбозом СТ 37 (37,8%), ТТ 17 (17,3%); контроль СТ 17 (34%), ТТ 6 (12%) p>0,001										
СТ	16	34,8	9	39,1	7	38,9	5	45,5	17	34
ТТ	8	17,4	4	17,4	3	16,7	2	18,1	6	12
Мутация V Лейден G1691A пациентки с тромбозами AA 2 (2,0%), GA 9 (9,2%); контрольная группа 0 (0%) p<0,001										
AA	1	2,2	1	4,3	-	-	-	-	-	-
GA	4	8,7	2	8,7	2	11,1	1	9,1	1	2
Мутация протромбина G20210A пациентки с тромбозами AA 2 (2,0%), GA 23 (23,5%); контрольная группа GA 1(3%) p<0,001										
GA	12	26,1	7	30,4	3	16,7	1	9,1	1	2
AA	1	2,2	1	4,3	-	-	-	-	-	-
Полиморфизм PAI-1 4G/5G пациентки с тромбозами 4G/4G 3(3,1%), 4G>5G 16 (16,3%); контрольная группа 4G/4G 2(4%), 4G>5G 7(14%) p>0,001										
4G>5G	7	15,2	4	17,4	3	16,7	2	18,1	7	14
4G/4G	1	2,2	1	4,3	1	5,6	-	-	2	4

Среди пациенток с тромбозами достоверно чаще мутации протромбина и фактора V Лейден выявлялись при наличии отдаленных метастазов и на более поздних стадиях заболевания (Таблицы 18 и 19). При анализе наследственного тромбофилитического анамнеза и наличия мутаций протромбина и фактора V Лейден у онкологических пациенток с развившимися впоследствии тромбозами было показано, что частота мутаций была одинаковой как у пациенток с отягощенным анамнезом, так и без него (Таблица 20).

Таблица 18 – Частота выявления наследственной тромбофилии у онкогинекологических пациенток с тромбозами (n=98) в зависимости от наличия отдаленных метастазов (уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток)

	С отдаленными метастазами (n = 17)		Без отдаленных метастазов (n= 81)		p
	n	%	n	%	
Мутация V Лейден	4	23,5	7	8,6	<0,001
Мутация протромбина	5	29,4	10	12,3	=0,001

Таблица 19 – Частота выявления наследственной тромбофилии у онкогинекологических пациенток с тромбозами (n=98) в зависимости от стадии заболевания (уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток)

	Стадия I (n =28)		Стадия II (n=42)		Стадия III (n=28)		p
	n	%	n	%	n	%	
Мутация V Лейден	1	3,6	5	11,9	5	17,9	<0,001
Мутация протромбина	5	17,9	11	26,2	9	32,1	<0,001

Таблица 20 – Частота выявления наследственной тромбофилии у онкогинекологических пациенток с тромбозами (n=98) в зависимости от наличия отягощенного наследственного тромбофилитического анамнеза (уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток)

	Отягощенный наследственный тромбофилитический анамнез (n = 29)		Неотягощенный наследственный анамнез (n= 69)		p
	n	%	n	%	
Мутация V Лейден	3	10,3	8	11,6	>0,001
Мутация протромбина	8	27,6	17	24,6	>0,001

То, что среди пациенток с тромбозами в проведенном нами исследовании достоверно чаще мутации протромбина G20210A и фактора V Лейден выявлялись при наличии отдаленных метастазов и на более поздних стадиях заболевания, может свидетельствовать о вкладе этих генетических поломок в канцерогенез и прогрессию опухоли. В настоящее время имеются данные исследований, изучающих роль наследственной тромбофилии в прогрессии рака при ряде

типов опухолей, включая опухоли яичек, молочной железы, колоректальный и гинекологические опухоли. Имеющиеся результаты указывают на влияние генетических полиморфизмов на канцерогенез. В проведенном нами исследовании при анализе наследственного тромботического анамнеза и наличия мутаций протромбина и фактора V Лейден у онкологических пациенток с развившимися впоследствии тромбозами было показано, что частота мутаций при тромбозах была одинаковой как у пациенток с отягощенным анамнезом, так и без него. Таким образом, налицо недостаточная эффективность сбора наследственного тромботического анамнеза, так как помимо генетических аномалий возможно присутствие еще и эпигенетических причин, приводящих к тромбозу в каждом конкретном случае у онкогинекологических пациенток.

Анализ циркуляции антифосфолипидных антител при однократном заборе крови по данным архивного материала показал достоверное повышение частоты циркуляции антифосфолипидных антител (АФА) у онкогинекологических пациенток по сравнению с контрольной группой: в обеих подгруппах с тромбозами и без из 207 пациенток АФА определялись у 72 (34,7%), в контрольной группе (n=50) у 4 (8%), при $p < 0,001$. Многим пациенткам помимо «критериальных» антител определялись и так называемые «некритериальные» антитела к фосфолипидам (антитела к аннексину 5, протромбину), однако, ввиду того, что не у всей выборки пациенток был определен весь объем изучаемых антител, анализу подверглось лишь наличие волчаночного антикоагулянта (ВА), антикардиолипидных антител (суммарных IgG и IgM) и антител к бета 2 гликопротеину 1 (суммарных IgG и IgM). Наиболее часто отмечалась циркуляция ВА как в группе с тромбозами – 31 (31,6%), так и в группе без тромбозов – 16 (14,7%). При сравнении двух групп между собой частота выявления антифосфолипидных антител в подгруппе пациенток с тромбозами оказалась достоверно выше 43 (43,9%), чем в подгруппе без тромбозов 29 (26,6%), $p < 0,001$. Трипл-позитивные пациентки (выявлены все три типа изучаемых антител) выявлены только в группе с онкотромбозами 3 (3,1%), дабл-позитивные (с циркуляцией двух видов из трех изучаемых антител) встречались достоверно чаще в группе с тромботическими осложнениями 7 (7,1%), чем без них 2 (1,8%) (Таблица 21).

Как у онкологических пациенток с тромбозами, так и без тромбозов частота выявления АФА росла с увеличением стадии заболевания (Таблицы 22 и 23). При выделении групп в зависимости от наличия либо отсутствия отдаленных метастазов частота выявления АФА была выше у пациенток с отдаленными метастазами как у пациенток с тромбозами, так и без них (Таблицы 24 и 25). Дабл- и трипл-позитивные пациентки чаще выявлялись на более поздних стадиях, а также при наличии отдаленных метастазов по данным дообследования из медицинской документации.

Таблица 21 – Частота выявления антифосфолипидных антител у онкогинекологических пациенток и в контрольной группе

	Онкогинекологические пациентки с тромбозами (n = 98)		Онкогинекологические пациентки без тромбозов (n=109)		Контрольная группа (n=50)	
	n	%	n	%	n	%
Антикардиолипиновые антитела (суммарные)	12	12,2	7	6,4	1	2
Антитела к $\beta 2$ гликопротеину 1 (суммарные)	13	13,2	8	7,3	1	2
Циркуляция ВА	31	31,6	16	14,7	3	6
Дабл-позитивные	7	7,1	2	1,8	1	2
Трипл-позитивные	3	3,1	-	-	-	-
АФА (всего)	43	43,9	29	26,6	4	8

Таблица 22 – Частота выявления антифосфолипидных антител у онкогинекологических пациенток с тромбозами (n=98) в зависимости от стадии заболевания (уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток)

	Стадия I (n =28)		Стадия II (n=42)		Стадия III (n=28)		p
	n	%	n	%	n	%	
Анти-кардиолипиновые антитела (суммарные)	2	7,1	4	9,5	6	21,4	<0,001
Анти $\beta 2$ гликопротеин 1 (суммарные)	1	3,6	5	11,9	7	25	<0,001
Циркуляция ВА	6	21,4	12	26,1	13	46,4	<0,001
Дабл-позитивные	1	3,6	3	7,1	3	10,7	<0,001
Трипл-позитивные			1	2,4	2	7,1	<0,001
АФА (всего)	8	28,6	16	38,1	19	67,9	<0,001

Таблица 23 – Частота выявления антифосфолипидных антител у онкогинекологических пациенток без тромбозов (n=109) в зависимости от стадии заболевания

	Стадия I (n = 42)		Стадия II (n = 44)		Стадия III (n = 23)		p
	n	%	n	%	n	%	
Анти-кардиолипиновые антитела	1	2,4	3	6,8	3	13,0	<0,001
Анти $\beta 2$ гликопротеин 1	2	4,8	2	4,5	4	17,4	=0,001
Циркуляция ВА	5	11,9	7	15,9	4	17,4	>0,001
Дабл-позитивные	-	-	1	2,3	1	4,3	<0,001
Трипл-позитивные	-	-	-	-	-	-	-
АФА (всего)	8	19,0	11	25	10	43,5	<0,001

Таблица 24 – Частота выявления антифосфолипидных антител у онкогинекологических пациенток с тромбозами (n=98) в зависимости от наличия отдаленных метастазов (уровень р рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток)

	С отдаленными метастазами (n = 17)		Без отдаленных метастазов (n = 81)		p
	n	%	n	%	
Антикардиолипиновые антитела (суммарные)	6	35,3	6	7,4	<0,001
Антитела к $\beta 2$ гликопротеину 1	7	41,2	6	7,4	<0,001
Циркуляция ВА	10	58,8	21	25,9	<0,001
Дабл-позитивные	4	23,5	3	3,7	<0,001
Трипл-позитивные	1	5,9	2	2,4	<0,001
АФА (всего)	17	100,0	26	32,0	<0,001

Таблица 25 – Частота выявления антифосфолипидных антител у онкогинекологических пациенток без тромбозов (n=109) в зависимости от наличия отдаленных метастазов

	С отдаленными метастазами (n =15)		Без отдаленных метастазов (n =94)		p
	n	%	n	%	
Анти-кардиолипиновые антитела	2	13,3	5	5,3	<0,001
Антитела к $\beta 2$ гликопротеину 1	2	13,3	6	6,4	<0,001
Циркуляция ВА	5	33,3	11	11,7	<0,001
Дабл-позитивные	1	6,7	1	1,1	<0,001
Трипл-позитивные	-	-	-	-	
АФА (всего)	8	53,3	21	22,3	=0,001

Полученные данные подтверждают тот факт, что рост опухоли, увеличение совокупного количества опухолевых клеток при прогрессировании и метастазировании стимулируют синтез АФА. Слабой стороной проведенного исследования была недостаточная «мощность» которая не позволила оценить вклад всех подтипов антифосфолипидных антител и кофакторов, включая «некритериальные», в развитие тромботического процесса у онкологических пациенток, а также, возможные различия в спектре антител из при разных нозологических формах и источниках опухоли.

Анализ концентрации гомоцистеина выявил среднюю концентрацию гомоцистеина у онкогинекологических пациенток $23 \pm 20,19$ $\mu\text{моль/л}$, что достоверно превышало показатели контрольной группы $9 \pm 2,74$ $\mu\text{моль/л}$ ($p < 0,05$). В исследовании границей между группами был выбран показатель 22 $\mu\text{моль/л}$ (среднее значение диапазона легкой степени гипергомоцистеинемии). У пациенток с тромботическими осложнениями в 65,3% случаев концентрация гомоцистеина превышала 22 $\mu\text{моль/л}$ (по сравнению с 22,9% в группе без

тромботических осложнений и 12% в контрольной группе, $p < 0,001$). При проведении логистического регрессионного анализа было показано, что риск венозной тромбоэмболии выше в 2,99 раза у пациенток с концентрацией гомоцистеина в плазме крови ≥ 22 $\mu\text{моль/л}$, по сравнению с пациентками с концентрацией гомоцистеина < 22 $\mu\text{моль/л}$ (95% ДИ: 1,11–8,08) (Таблица 26).

Таблица 26 – Результаты логистического регрессионного анализа у онкологических пациенток с тромботическими осложнениями

Показатель	OR (95%CI)	aOR (95%CI)
Концентрация гомоцистеина ($\mu\text{моль/л}$)		
≥ 22	5,25 (2,38–11,59)	2,99 (1,11–8,08)
< 22	1,00	

Примечание: CI (confidence interval) – доверительный интервал, OR (odds ratio) – отношение шансов, aOR (adjustment odds ratio) – скорректированное отношение шансов

У всех пациенток проведен анализ частоты мутации и полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTRR A66G, MTR A2756G. Достоверных различий в частоте у онкологических пациенток и в контрольной группе выявлено не было ($p > 0,001$). У онкологических пациенток при этом с выявленными полиморфизмами генов ферментов фолатного цикла средние показатели концентрации гомоцистеина в плазме крови оказались достоверно выше, чем в контрольной группе у пациенток с полиморфизмами ($p < 0,001$). Данное заключение подтверждает тот факт, что не только наличие полиморфизма влияет на концентрацию гомоцистеина, но и внешние факторы, как в данном случае наличие опухолевого роста, а также, возможно, фолатный статус. На основании полученных данных стоит поставить вопрос об обогащении рациона онкогинекологических пациенток фолиевой кислотой, а также об оценке концентрации гомоцистеина в плазме крови в качестве биомаркера тромботического риска и использовании препаратов фолиевой кислоты при ведении онкогинекологических пациенток.

Неоднородность факторов тромботического риска у различных онкологических пациентов, а также динамические изменения этих факторов у отдельно взятого пациента с течением времени делают сложным процесс достоверной оценки риска. Перспективы создания простой, точной и недорогой шкалы оценки, основанной на статусе пациента, анамнезе и нескольких простых лабораторных показателях равны нулю. При этом создание цифрового продукта, способного анализировать сразу большое количество данных одного пациента, включающих как стандартные факторы риска, так и вновь выявленные биомаркеры гемостаза, несмотря на дороговизну, в перспективе поможет снизить затраты на ведение онкологического больного и улучшит выживаемость. Прогресс медицины, постоянное углубление знаний в области патогенеза рак-ассоциированного тромбоза, патогенеза прогрессии опухоли, улучшения

лабораторной диагностики не дает возможность практикующему онкологу правильно сориентироваться в стратегии. Использование цифровых продуктов, с внесением всех данных пациентов и максимально большого спектра доказанных биомаркеров, с учетом представленной концепции тромбовоспаления, значительно улучшит выбор правильной тактики ведения пациентов (Схема 3).

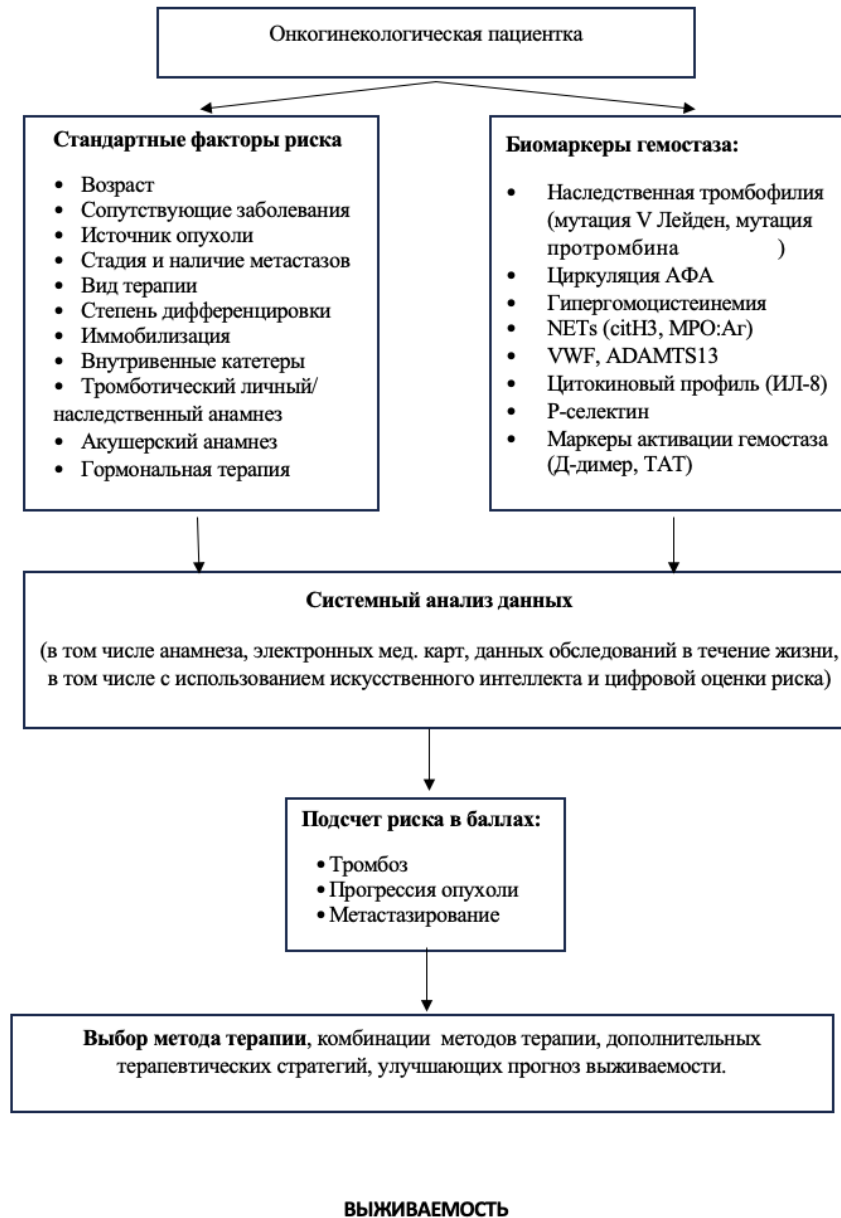


Схема 3 – Разработка стратегии оценки риска тромбоза, прогрессии опухоли и метастазирования с использованием программного обеспечения и последующим выбором оптимальной тактики ведения пациентки

В проведенном нами исследовании тромбоз в проспективной группе за время наблюдения не произошел ни у одной пациентки, однако мониторинг системы гемостаза выявил значительную активацию системы гемостаза у многих пациенток, несмотря на проводимую

терапию НМГ. Помимо антитромботической профилактики у онкогинекологических пациенток есть много других причин для использования гепарина, в том числе и попытки замедлить процесс прогрессии опухоли и метастазирование. Неблагоприятным побочным эффектом гепарина остается повышенная кровоточивость. Другим неблагоприятным побочным эффектом является риск гепарин-индуцированной тромбоцитопении. Неантикоагулянтные гепарины в настоящее время изучаются в качестве антиметастатических агентов. Была продемонстрирована их противоопухолевая эффективность в отсутствии влияния на коагуляционный каскад. Их внедрение в клиническую практику было бы оправдано возможностью использования больших доз при отсутствии риска развития массивных кровотечений.

Ориентация на новые мишени, такие как NETs и VWF, кажется многообещающей и эффективной стратегией противотромботической профилактики и терапии при раке. Инфузия рекомбинационного человеческого ADAMTS-13 с эффектом растворяет устойчивые к t-PA тромбы в экспериментах, по данным литературы. Учитывая данные проведенного нами исследования NETs можно рассматривать как новую мишень противотромботической и противоопухолевой терапии. Нетоз, как возможная мишень, может быть прерван на разных уровнях. Запуск нетоза при помощи цитокинов и хемокинов, в частности ИЛ-8, возможно нейтрализовать с использованием моноклональных антител, а также ингибиторов CXCR1/2. Данные препараты в настоящее время проходят клинические испытания. Активация нетоза также происходит под влиянием цитруллинирования гистона H3 ферментом PAD-4. Селективные ингибиторы PAD-4 также находятся на стадии разработки. Внеклеточная ДНК как компонент может быть разрушена с использованием ДНКазы I. Так как NETs способствуют прогрессированию и метастазированию опухоли, препараты, потенциально снижающие концентрацию NETs будут обладать противоопухолевым эффектом.

Наше исследование показало, что реакции тромбовоспаления у онкогинекологических пациенток замыкают на себе множество ранее считающихся независимыми процессов, объединяя их вокруг опухоли, способствуя дальнейшему ее росту и распространению, формируя протромботическое состояние, также предрасполагающее к распространению опухолевого процесса. При этом стандартные способы противотромботической профилактики и терапии, несмотря на их большой вклад в улучшение выживаемости, все же не обладают достаточной эффективностью с учетом нетоза. Кроме того, нетоз способен снижать эффективность проводимой химиотерапии и увеличивать риск тромботических осложнений на ее фоне. Имеющиеся у пациенток различные виды тромбофилии как наследственной, так и приобретенной, опосредованно могут усилить интенсивность патогенетических процессов, драматически снижая выживаемость в группе онкогинекологических пациенток. Знание новых

патогенетических механизмов позволит своевременно оценивать риски не только тромботических осложнений, но и прогнозировать течение заболевания. Разработка патогенетической терапии с учетом новых мишеней позволит снизить интенсивность процессов тромбовоспаления у онкогинекологических пациенток, в том числе на фоне различных видов терапии, улучшит показатели выживаемости и снизит частоту тромботических осложнений.

ВЫВОДЫ

1. Тромбовоспаление и активация системы гемостаза играют важную роль в патогенезе опухолевого роста, метастазирования и тромботических осложнений у онкогинекологических пациенток.
2. Концентрация маркеров нетоза достоверно повышена у всех онкогинекологических пациенток (CitH3 $1,78 \pm 1,03$ нг/мл ($p < 0,05$), MPO:Ag $15,97 \pm 11,83$ нг/мл ($p < 0,05$)) по сравнению с контрольной группой. Максимальные концентрации отмечаются в подгруппе «рак тела матки» (CitH3 $2,62 \pm 0,67$ нг/мл, MPO:Ag $29,46 \pm 13,11$ нг/мл) и «рак шейки матки» (CitH3 $2,31 \pm 0,8$ нг/мл, MPO:Ag $21,22 \pm 10,0$ нг/мл).
3. Концентрация маркеров нетоза (MPO:Ag, CitH3), концентрация ИЛ-8, количество лейкоцитов, концентрация маркеров активации гемостаза (Д-димер и ТАТ) коррелируют со стадией заболевания у онкогинекологических пациенток во всех группах ($p < 0,001$).
4. У онкогинекологических пациенток нарушено функционирование оси ADAMTS-13/VWF: концентрация VWF:Ag повышена и коррелирует со стадией заболевания, антиген ADAMTS-13:Ag ($0,40 \pm 0,12$ МЕ/мл) и активность ADAMTS-13:Ак ($0,43 \pm 0,13$ МЕ/мл) у онкогинекологических пациенток достоверно ниже. Максимальные концентрации VWF:Ag выявлены в подгруппе «рак яичников» ($p < 0,0001$). Отношение VWF:Ag/ADAMTS-13:Ag достоверно повышено во всех группах ($4,39$ ($p = 0,001$), в контрольной группе $0,94$), нарастает после проведения курсов химиотерапии ($6,42$ ($p < 0,05$)) и коррелирует с маркерами активации гемостаза – комплексами тромбин антитромбин ($p \leq 0,05$).
5. У онкогинекологических пациенток выявлена достоверная корреляция между концентрацией маркеров нетоза (CitH3 и MPO:Ag) и концентрацией VWF:Ag ($\rho = 0,80$, $p < 0,01$), ($\rho = 0,70$, $p < 0,01$) во всех подгруппах. У пациенток подгруппы «рак яичников» концентрация MPO:Ag коррелирует с ADAMTS-13:Ак ($\rho = -0,58$, $p < 0,01$) и ADAMTS-13:Ag ($\rho = -0,60$, $p < 0,01$), а концентрация CitH3 коррелирует с ADAMTS-13:Ак ($\rho = -0,62$, $p < 0,01$) и ADAMTS-13:Ag ($\rho = -0,69$, $p < 0,01$).
6. У онкологических больных с выраженным нетозом отсутствует корреляция между концентрацией маркеров нетоза и уровнем Д-димера. В то же время рост концентрации маркеров

тромбинообразования, комплексов тромбин-анти тромбин ($p < 0,05$), свидетельствует о выраженной активации системной коагуляции.

7. Динамическая оценка показателей активации нетоза, маркеров активации системы гемостаза и оси ADAMTS-13/VWF через 14 дней после второго курса химиотерапии и через 14 дней после оперативного лечения продемонстрировала, по сравнению с исходными до лечения показателями, достоверные различия: в группе пациенток после химиотерапии выявлен достоверный рост концентрации citH3 (до $1,23 \pm 0,71$ нг/мл, после $2,46 \pm 1,24$ нг/мл ($p = 0,0001$)), MPO:Ag (до $16,02 \pm 4,36$ нг/мл, после $22,76 \pm 7,31$ нг/мл ($p = 0,0001$)), VWF:Ag ($2,34 \pm 0,42$ МЕ/мл ($p < 0,05$)), VWF:Ag/ADAMTS-13:Ag 6,42 ($p < 0,05$), ADAMTS-13:Инг $7,28 \pm 2,34$ МЕ/мл ($p < 0,05$), достоверное снижение ADAMTS-13:Ag ($0,34 \pm 0,07$ ЕД/мл ($p < 0,05$)) по сравнению с группой оперативного лечения, где достоверных изменений выявлено не было. Рост концентрации VWF и отношения VWF:Ag/ADAMTS-13:Ag достоверно коррелировали с концентрацией комплексов ТАТ ($p < 0,05$).

8. Динамическая оценка маркеров нетоза и активации гемостаза через 14 дней после 4 и после 6 курсов химиотерапии у пациенток, использовавших НМГ и НМГ + аспирин, выявила достоверное снижение концентрации как маркеров нетоза ($p < 0,05$), так и маркеров активации гемостаза ($p < 0,05$). Статистически значимых различий между группами, использующих НМГ и НМГ + аспирин не выявлено ($p > 0,05$), при том, что средние значения у пациенток подгруппы НМГ + аспирин были ниже, чем в подгруппе НМГ.

9. У пациенток с онкотромбозами генетическая тромбофилия (мутация V Лейден, мутация протромбина) выявлялась достоверно чаще ($p < 0,001$), по сравнению с группой без тромбозов. Из всех пациенток с онкотромбозами мутация протромбина и мутация V Лейден чаще выявлялась у пациенток на более поздних стадиях заболеваний и при наличии отдаленных метастазов ($p \leq 0,001$).

10. Циркуляция антифосфолипидных антител достоверно чаще выявляется у онкогинекологических пациенток по сравнению с контрольной группой (34,7% $p < 0,001$), превалируя в подгруппе пациенток с тромботическими осложнениями (43,9%, $p < 0,001$). Частота выявления АФА растет с увеличением стадии заболевания и при наличии отдаленных метастазов ($p < 0,001$).

11. У 43,5% пациенток подгруппы «рак яичников» достоверно чаще выявляется циркуляция антител к бета-2-гликопротеину 1 по сравнению с контрольной группой ($p > 0,05$), выявлена корреляция между циркуляцией антител к бета-2-гликопротеину 1 и концентрацией MPO:Ag, ТАТ и Д-димером ($p \leq 0,01$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Оценка показателей маркеров тромбовоспаления (маркеры нетоза, ИЛ-8, концентрация лейкоцитов), активации системы гемостаза (комплексы ТАТ и Д-димер) и функционирования оси ADAMTS-13/VWF (концентрации VWF, ADAMTS-13, активность и ингибиторы ADAMTS-13, отношение VWF/ADAMTS-13) на фоне проведения противоопухолевой терапии у онкогинекологических пациенток эффективны для оценки риска тромботических осложнений и прогнозирования течения заболевания.
2. Маркеры тромбовоспаления могут быть включены в новые шкалы оценки риска тромбоза, а также использованы как мишени для разработки новой противотромботической и противовоспалительной и противоопухолевой терапии, что может улучшить прогноз у онкогинекологических пациенток.
3. Наследственная и приобретенная тромбофилия вносят значительный вклад в повышение риска тромботических осложнений у онкологических пациентов и должны быть включены в шкалы оценки риска тромбоза у онкогинекологических пациенток.
4. Оценка риска тромбоза с учетом только лишь семейного и личного тромботического анамнеза, а также генетических факторов без дополнительных, в том числе и вновь выявленных факторов риска (приобретенных и триггерных), может приводить к недооценке рисков тромбозов у онкогинекологических пациенток.
5. Низкомолекулярные гепарины и аспирин должны включаться в схему терапии и ведения онкологических пациентов наряду с оперативным лечением, химиотерапией и другой противоопухолевой терапией с предварительной оценкой рисков не только тромботических, но и геморрагических осложнений. Исходя из полученных данных о роли тромбовоспаления, эндотелиопатии, нарушений функционирования оси VWF/ADAMTS-13 в дальнейшем необходима разработка, клиническая апробация и внедрение патогенетически обоснованной терапии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Слуханчук, Е.В.** NETs и онкологический процесс / **Е.В. Слуханчук** // **Акушерство, гинекология и репродукция.** – 2021. – Т. 15. – № 1. – С. 107–116. [Scopus]
2. Макацария, А.Д. Внеклеточные ловушки нейтрофилов участие в процессах воспаления и дисрегуляции гемостаза, в том числе у пациентов с COVID-19 и тяжелой акушерской патологией / А.Д. Макацария, **Е.В. Слуханчук**, В.О. Бицадзе, Д.Х. Хизроева, М.В. Третьякова, Н.А. Макацария, С.В. Акиншина, А.С. Шкода, Л.Л. Панкратьева, Д.К. Ди Ренцо, Д. Риццо, К.Н.

Григорьева, В.И. Цибизова, Ж.К. Гри, И. Элалами // **Акушерство, гинекология и репродукция.** – 2021. – Т. 15. – № 4. – С. 335–350. [Scopus]

3. **Слуханчук, Е.В.** Иммунотромбоз у онкологических больных: вклад внеклеточных ловушек нейтрофилов, ADAMTS-13 и фактора фон Виллебранда / **Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе, А.Г. Солопова, Д.Х. Хизроева, В.И. Цибизова, Ж.К. Гри, И. Элалами, Д.В. Щербаков, Л.Л. Панкратьева, Л.А. Ашрафян, А.Д. Макацария** // **Акушерство, гинекология и репродукция.** – 2022. – Т. 16. – № 6. – С. 648–663. [Scopus]

4. **Слуханчук, Е.В.** Внеклеточные ловушки нейтрофилов как маркеры тромбовоспаления в патогенезе злокачественных новообразований женских половых органов и молочной железы / **Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе, А.Г. Солопова, Д.Х. Хизроева, И. Элалами, А.Д. Макацария** // **Акушерство, гинекология и репродукция.** – 2022. – Т. 16. – № 4. – С. 426–437. [Scopus]

5. **Слуханчук, Е.В.** Взаимодействие внеклеточных ловушек нейтрофилов и антифосфолипидных антител у онкологических больных / **Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе, А.Г. Солопова, Д.Х. Хизроева, Д.В. Щербаков, Ф.Э.К. Якубова, Ж.К. Гри, И. Элалами, Н.Д. Дегтярева, З.Д. Асланова, А.С. Шкода, А.Д. Макацария** // **Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.** – 2023. – Т. 22. – № 3. – С. 54–62. [Scopus]

6. **Слуханчук, Е.В.** Иммунотромбоз, прогрессия опухоли и метастазирование. Роль интерлейкина-8 и внеклеточных ловушек нейтрофилов / **Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе, А.Г. Солопова, Д.Х. Хизроева, Д.В. Щербаков, Ф.Э.К. Якубова, Ж.К. Гри, И. Элалами, Н.Д. Дегтярева, А.В. Лазарчук, М.А. Гилева, З.Д. Асланова, В.И. Цибизова, А.С. Шкода, А.Д. Макацария** // **Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.** – 2023. – Т. 22. – № 4. – С. 48–56. [Scopus]

7. **Слуханчук, Е.В.** Вклад внеклеточных ловушек нейтрофилов в протромботическое состояние и прогрессию опухоли у онкогинекологических пациенток / **Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе, А.Г. Солопова, Д.Х. Хизроева, Н.Д. Дегтярева, Д.В. Щербаков, Ж.К. Гри, И. Элалами, А.Д. Макацария** // **Акушерство, гинекология и репродукция.** – 2023. – Т. 17. – № 1. – С. 53–64. [Scopus]

8. Бицадзе, В.О. Гомоцистеин, рак и онкотромбозы / В.О. Бицадзе, **Е.В. Слуханчук, А.Г. Солопова, Д.Х. Хизроева, Д.В. Щербаков, Ф.Э. Якубова, Ж.К. Гри, И. Элалами, Н.Д. Дегтярева, А.В. Лазарчук, М.А. Гилева, Н.В. Самбунова, Д.В. Блинов, А.С. Шкода, А.Д. Макацария** // **Акушерство, гинекология и репродукция.** – 2023. – Т. 17. – № 4. – С. 390–401. [Scopus]

9. Бицадзе, В.О. Фактор фон Виллебранда и ADAMTS13 как предикторы тромбоза у онкогинекологических пациенток на фоне химиотерапии / В.О. Бицадзе, **Е.В. Слуханчук, А.Г. Солопова, Д.Х. Хизроева, Д.В. Щербаков, Ф.Э.К. Якубова, Ж.К. Гри, И. Элалами, Н.Д. Дегтярева, М.А. Гилева, З.Д. Асланова, И.А. Накаидзе, В.И. Цибизова, А.С. Шкода, А.Д. Макацария** //

- Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.** – 2023. – Т. 22. – № 4. – С. 39–47. [Scopus]
10. **Слуханчук, Е.В.** Маркеры внеклеточных ловушек нейтрофилов у женщин со злокачественными новообразованиями репродуктивной системы, получавших хирургическое лечение и адъювантную терапию / **Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе, А.Г. Солопова, Д.Х. Хизроева, Ж.К. Гри, И. Элалами, Н.Д. Дегтярева, М.А. Гилева, Н.В. Самбурова, Д.В. Щербаков, Ф.Э. Якубова, М.Е. Зелепухина, Д.В. Блинов, А.Д. Макацария** // **Акушерство, гинекология и репродукция.** – 2023. – Т. 17. – № 4. – С. 420–432. [Scopus]
11. **Слуханчук, Е.В.** Лейкоцитоз и нетоз как маркеры неблагоприятного прогноза у онкогинекологических пациенток / **Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе, А.Г. Солопова, Д.Х. Хизроева, Д.В. Щербаков, Ф.Э.К. Якубова, Д. Ай, И. Элалами, Н.Д. Дегтярева, З.Д. Асланова, А.С. Шкода, А.Д. Макацария** // **Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.** – 2023. – Т. 22. – № 5. – С. 15–21. [Scopus]
12. Макацария, А.Д. Концепция тромбовоспаления как основы тромботических осложнений, прогрессии опухоли и метастазирования у онкогинекологических больных / **А.Д. Макацария, Е. В. Слуханчук, В.О. Бицадзе, А.Г. Солопова, Д.Х. Хизроева, Л.А. Ашрафян, В.Н. Серов, А. Е.Войновский, Д.Ю.Унгиадзе, А.В. Лазарчук, М.В.Третьякова, Н.А. Макацария, П.В.Сальникова, Н.Р. Гашимова, К.Н. Григорьева, К.Л. Закашанский, И. Элалами, Ж.-К. Гри** // **Акушерство, Гинекология и Репродукция.** - 2024. - Т.18. - №.4. - С. 450-463. [Scopus]
13. Бицадзе, В.О. Антикоагулянтные, противовоспалительные, противовирусные и противоопухолевые свойства гепаринов / **В.О. Бицадзе, Е.В. Слуханчук, Д.Х. Хизроева, М.В. Третьякова, Н.В. Пятигорская, С.В. Акиньшина, Н.А. Макацария, К.Э. Гоциридзе, Н.Н. Бабаева, К.Н. Григорьева, А.С. Шкода, И. Элалами, Ж.К. Гри, С. Шульман** // **Акушерство, гинекология и репродукция.** – 2021. – Т. 15. – № 3.– С.295-312. [Scopus]
14. **Слуханчук, Е.В.** Тромбоциты, тромбовоспаление и онкологический процесс / **Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе, Д.Х. Хизроева, М.В. Третьякова, А.Г. Солопова, В.Н. Галкин, А.С. Шкода, В.И. Цибизова, В.И. Линников, И. Элалами, Ж.К. Гри, Б. Бреннер, А.Д. Макацария** // **Акушерство, гинекология и репродукция.** – 2021. – Т. 15. – № 6. – С. 755–776. [Scopus]
15. Бицадзе, В.О. Внеклеточные ловушки нейтрофилов (NETs) в патогенезе тромбоза и тромбовоспалительных заболеваний / **В.О. Бицадзе, Е.В. Слуханчук, Д.Х. Хизроева, М.В. Третьякова, А.С. Шкода, Л.С. Радецкая, А.Д. Макацария, И. Элалами, Ж.К. Грис, Э. Грандоне** // **Вестник Российской академии медицинских наук.** – 2021. – Т. 76. – № 1. – С. 75–85. [Scopus]
16. **Слуханчук, Е.В.** Факторы риска тромбозов у онкологических больных / **Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе, А.Г. Тянь, Д.Х. Хизроева, М.В. Третьякова, А.Г. Солопова, М. Муян, И. Элалами,**

- Ж.К. Гри, С. Ай, А.Д. Макацария // **Вестник Российской академии медицинских наук.** – 2021. – Т. 76. – № 5. – С. 465–475. [Scopus]
17. Бицадзе, В.О. Антикоагулянты: методы контроля дозы и ингибиторы / В.О. Бицадзе, **Е.В. Слуханчук**, Д.Х. Хизроева, М.В. Третьякова, В.И. Цибизова, Н.Р. Гашимова, И.А. Накаидзе, И. Элалами, Ж.К. Гри, А.Д. Макацария // **Акушерство, гинекология и репродукция.** – 2022. – Т. 16. – № 2. – С. 158–175. [Scopus]
18. **Слуханчук, Е.В.** Тромбовоспаление у онкологических больных / **Е.В. Слуханчук**, В.О. Бицадзе, А.Г. Солопова, Д.Х. Хизроева, Ж.К. Гри, И. Элалами, Л.Л. Панкратьева, В.И. Цибизова, Д.Ю. Унгиадзе, Л.А. Ашрафян, А.Д. Макацария // **Акушерство, гинекология и репродукция.** – 2022. – Т. 16. – № 5. – С. 611–622. [Scopus]
19. **Слуханчук, Е.В.** Показатели гемостаза как прогностические биомаркеры у онкогинекологических пациенток / **Е.В. Слуханчук**, В.О. Бицадзе, А.Г. Солопова, Д.Х. Хизроева, Ж.К. Гри, И. Элалами, Д.В. Щербаков, А.С. Шкода, Л.Л. Панкратьева, Д.Ю. Унгиадзе, Л.А. Ашрафян, А.Д. Макацария // **Акушерство, гинекология и репродукция.** – 2023. – Т. 17. – № 2. – С. 257–268. [Scopus]

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ADAMTS-13	металлопротеиназа, принадлежащая к семейству пептидазных белков ADAM
CitH3	Цитруллинированный H3 гистон
MPO:Ag	Антиген миелопероксидазы
MTHFR	Метилентетрагидрофолатредуктаза
MTR	5-метилтетрагидрофолат-гомоцистеинметилтрансферазы
MTRR	Метионинсинтаза редуктаза
NETs	Neutrophil extracellular trap, внеклеточные ловушки нейтрофилов
PAD4	Пептидил аргинин деиминаза 4
PAI-1	Ингибитор активатора плазминогена-1
tPA	Активатор плазминогена тканевого типа
VWF	Фактор фон Виллебранда VWF
АФА	Антифосфолипидные антитела
АФС	Антифосфолипидный синдром
АЧТВ	Активированное частичное тромбопластиновое время
ВА	Волчаночный антикоагулянт
ИЛ-8	Интерлейкин-8
НМГ	Низкомолекулярный гепарин
РМЖ	Рак молочной железы
РТМ	Рак тела матки
РШМ	Рак шейки матки
РЯ	Рак яичников
ТАТ	Комплексы тромбин-антитромбин
ЦОГ	Циклооксигеназа