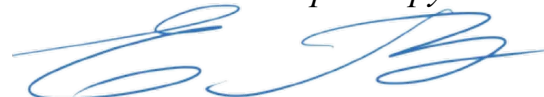


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

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

Диссертация

на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор

Бицадзе Виктория Омаровна

доктор медицинских наук, профессор

Солопова Антонина Григорьевна

Москва – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ТРОМБОЗ И ТРОМБОВОСПАЛЕНИЕ В ОНКОГИНЕКОЛОГИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	15
1.1 Эпидемиология злокачественных новообразований женской репродуктивной системы	15
1.2 Факторы риска тромбоза в онкологии	17
1.3 Идентификация риска тромбозов	29
1.4 Тромбовоспаление в патогенезе тромботических осложнений, прогрессии опухоли и метастазирования.....	33
1.4.1 Внеклеточные ловушки нейтрофилов в онкогенезе и тромбогенезе	34
1.4.2 Фактор фон Виллебранда и ADAMTS13 в патогенезе тромботической микроангиопатии у онкогинекологических пациенток	40
1.5 Наследственная тромбофилия у онкогинекологических пациенток	44
1.6 Циркуляция антифосфолипидных антител у онкогинекологических пациенток	47
1.7 Гипергомоцистеинемия у онкогинекологических пациенток.....	49
1.8 Химиотерапия, тромбовоспаление и тромбогенез у онкогинекологических пациенток	53
1.9 Современная стратегия тромбопрофилактики и терапии тромбозов в онкогинекологии. Антикоагулянтные и неантикоагулянтные свойства гепаринов.....	57
1.10 Аспирин, тромбовоспаление и рак	73
1.11 Выводы по главе 1	76
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	81
2.1 Клиническая характеристика обследованных больных	81
2.1.1 Дизайн исследования	81
2.1.2 Критерии включения и исключения.....	84
2.1.3 Группы обследованных пациенток	86

2.1.3.1	Перспективная группа пациенток	86
2.1.3.2	Ретроспективная группа пациенток	89
2.2	Методы исследования.....	93
2.2.1	Определение маркеров нетоза	93
2.2.2	Определение маркеров активации гемостаза.....	94
2.2.3	Определение концентрации антигена фактора фон Виллебранда, концентрации и активности ADAMTS13	94
2.2.4	Определение концентрации интерлейкина-8	94
2.2.5	Определение циркуляции антифосфолипидных антител	95
2.2.6	Диагностика генетических форм тромбофилии	95
2.2.7	Оценка системы гемостаза	95
2.2.8	Оценка концентрации гомоцистеина	96
2.2.9	Статистическая обработка полученных данных.....	96
ГЛАВА 3. ТРОМБОВОСПАЛЕНИЕ У ОНКОГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОК (РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В ПРОСПЕКТИВНОЙ ГРУППЕ)		98
3.1	Определение циркуляции внеклеточных ловушек нейтрофилов как маркеров тромбовоспаления, прогрессии опухоли и метастазирования	99
3.1.1	Взаимодействие внеклеточных ловушек нейтрофилов и интерлейкина-8. .	103
3.1.2	Взаимодействие внеклеточных ловушек нейтрофилов и антифосфолипидных антител	107
3.1.3	Динамика концентрации маркеров нетоза и активации гемостаза до и после оперативного лечения, а также на фоне курсов химиотерапии	108
3.2	Определение антигена, активности и ингибитора ADAMTS13, концентрации фактора фон Виллебранда, отношения фактор фон Виллебранда/ADAMTS13:антиген до и после противоопухолевой терапии	114
ГЛАВА 4. НАСЛЕДСТВЕННАЯ И ПРИОБРЕТЕННАЯ ТРОМБОФИЛИИ У ОНКОГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОК (РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В РЕТРОСПЕКТИВНОЙ ГРУППЕ)		128

4.1 Частота выявления генетической тромбофилии у онкогинекологических пациенток с тромботическими осложнениями	129
4.2 Частота выявления антифосфолипидных антител у онкогинекологических пациенток с тромботическими осложнениями	132
4.3 Частота выявления гипергомоцистеинемии у онкогинекологических пациенток с тромботическими осложнениями	135
ГЛАВА 5. КОНЦЕПЦИЯ ТРОМБОВОСПАЛЕНИЯ КАК ОСНОВЫ ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ, ПРОГРЕССИИ ОПУХОЛИ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ У ОНКОГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОК (ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ).....	142
5.1 Тромбовоспаление как звено патогенеза прогрессии опухоли, метастазирования и тромботических осложнений у онкогинекологических пациенток	145
5.2 Наследственная и приобретенная тромбофилия как фактор, влияющий на прогноз у онкогинекологических пациенток	175
5.3 Биомаркеры гемостаза и стратегия оценки риска тромбоза, прогрессии опухоли и метастазирования.....	191
5.4 Новый взгляд на эффективность низкомолекулярных гепаринов, подходы к терапии в рамках концепции о тромбовоспалении	206
5.5 Клинический случай	213
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	219
ВЫВОДЫ	224
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	227
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	228
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	233

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Злокачественные новообразования являются одной из самых значимых проблем, затрагивающих систему здравоохранения. Отмечается постоянный рост числа злокачественных новообразований во всем мире. В 2021 г. в Российской Федерации впервые выявлено 580 415 случаев злокачественных новообразований (в том числе 265 039 и 315 376 у пациентов мужского и женского пола соответственно). Рост данного показателя по сравнению с 2020 г. составил 4,4% [1].

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, человечеству известно это более 200 лет. Первым, кто выявил строгую зависимость между раком и развитием венозных тромбоэмболических осложнений был Арман Труссо [2, 3]. Механизмы, приводящие к тромбозу, включают в себя не только активацию системы свертывания, но и патологическую активацию эндотелия, лейкоцитов, тромбоцитов на фоне действия воспалительных цитокинов и запуска реакций тромбовоспаления в условиях опухолевого роста. 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 формируют агрегаты и, 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.

Степень разработанности темы исследования

В последние годы растет количество исследований, подтверждающих большую роль лейкоцитов в развитии протромботического состояния. Недавно было показано, что нейтрофилы (наиболее широко представленная группа лейкоцитов) способны вытеснять ДНК и внутриклеточное содержимое в виде паутины (сетей), известных как внеклеточные ловушки нейтрофилов (NETs-neutrophil extracellular traps), обладающие 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, ответственный за адгезию и агрегацию тромбоцитов. Мульмеры VWF расщепляет металлопротеиназа ADAMTS13, тем самым регулируя его количество и активность [4]. Дефицит ADAMTS13 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 ADAMTS13. Далее происходит более

интенсивное потребление металлопротеиназы ADAMTS13, с последующим снижением ее концентрации и активности. Ряд лекарственных препаратов, активно используемых при химиотерапии у онкогинекологических пациенток, напрямую токсичны для эндотелия. Кроме того, на фоне их использования происходит формирование эндотелиотоксичных иммунных комплексов и нарастание риска развития тромботических осложнений.

Профилактика тромбозомболических осложнений у онкогинекологических пациенток остается сложной и не до конца решенной задачей. Риск венозного тромбоза зависит от таких факторов, как гистологический тип опухоли, и стадия заболевания [5], а также индивидуальный протромботический профиль пациента, который представляет собой результирующую показателей пола, возраста, сопутствующих заболеваний и видов проводимой противоопухолевой терапии [4, 6]. Разработаны различные шкалы оценки тромбоза у онкологических больных [3]. 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 [7] 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, 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 [3]. Отталкиваясь от роли реакций тромбовоспаления в патогенезе тромбоза у онкологических пациентов необходимо рассмотреть влияние патогенетической терапии как на протромботический потенциал, так и на прогрессию опухоли и метастазирование.

Единичны и противоречивы исследования, посвященные изучению процессов тромбовоспаления и нарушений гемостаза в патогенезе прогрессии опухоли, метастазирования и тромботических осложнений 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 роль тромбовоспаления и нарушений гемостаза в патогенезе онкогинекологических заболеваний и тромботических осложнений на фоне противоопухолевой терапии.

Задачи:

1. Изучить выраженность реакций тромбовоспаления у онкогинекологических пациенток в процессе противоопухолевой терапии.
2. Оценить в динамике показатели оси ADAMTS13/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 с учетом 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 в 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

По результатам исследования сформирована концепция тромбовоспаления и нарушений в системе гемостаза, являющаяся составной частью патогенеза онкологических заболеваний и тромботических осложнений у онкогинекологических пациенток на фоне противоопухолевой терапии.

Разработаны принципы обследования онкогинекологических пациенток, направленные на оценку интенсивности реакций тромбовоспаления и нарушений гемостаза, которые могут быть с успехом использованы при ведении пациенток. Все это повысит эффективность и результативность лечения пациенток, снизит риск осложнений, а также улучшит 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 антикоагулянтной 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 и анализ архивного материала за период с 2016 по 2021 годы. Был применен комплексный подход, который включал в себя клинико-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 ADAMTS13/VWF (концентрации, активности, ингибиторов ADAMTS13, концентрации VWF, отношения VWF/ADAMTS13) является информативным методом определения риска тромботических осложнений у онкогинекологических пациенток.
4. Динамическая оценка маркеров тромбовоспаления и активации гемостаза у онкогинекологических пациенток вносит весомый вклад в оценку риска тромботических осложнений и прогноза течения заболевания. Проведение динамической оценки концентрации маркеров нетоза, активации гемостаза и функционирования оси ADAMTS13/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

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология п. 1. Исследования по изучению эпидемиологии, этиологии, патогенеза гинекологических заболеваний, п. 4. Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики осложненного течения беременности и родов, гинекологических заболеваний и соответствует паспорту специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия п. 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.).

Степень достоверности и апробация результатов

Диссертация обсуждена и апробирована 14.06.2024. (протокол №11) на расширенной конференции кафедры акушерства и гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), врачей гинекологического отделения перинатального центра и женских консультаций ГКБ №67 имени Л.А. Ворохобова. Работа выполнена в Сеченовском Университете.

Основные положения диссертации доложены на:

1. XXI Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя» (Москва, 2020). Доклад на тему: «Противотромботическая терапия у онкологических больных в условиях COVID-19».
2. XXIII Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя» (Москва, 2022). Доклад на тему: «Тромбовоспаление в онкогинекологии».
3. VI Национальном научно-образовательном конгрессе с международным участием «Онкогинекологические проблемы от менархе до постменопаузы» (Москва, 2022). Доклад на тему: «Внеклеточные ловушки нейтрофилов и их роль в опухолевом процессе».
4. V Национальном научно-образовательном конгрессе с международным участием (Москва, 2021) «Онкогинекологические проблемы от менархе до постменопаузы». Доклад на тему: «Рак и тромбозы», совместно с Benjamin Brenner.
5. VII Всероссийской конференции с международным участием «Гемостаз, тромбоз и репродукция» (Санкт-Петербург, 2022). Доклад на тему: «Нарушения гемостаза, рак и COVID-19».
6. VII Национальном научно-образовательном конгрессе с международным участием «Онкогинекологические проблемы от менархе до постменопаузы»

(Москва, 2023). Доклад на тему: «Нейтрофильные ловушки (NETs) как маркер воспаления и прокоагулянтного состояния».

7. VIII Всероссийской конференции с международным участием «Гемостаз, тромбоз и репродукция» (Санкт-Петербург, 2023). Доклад на тему: «Тромбовоспаление, метастазирование и прогрессия опухоли».

8. Международной научно-практической конференции «Современная медицина: инновации и актуальные подходы» (Баку, Азербайджан, 2023). Доклад на тему «Внеклеточные ловушки нейтрофилов, ADAMTS13 и фактор Виллебранда в патогенезе рак-ассоциированных тромбозов и прогрессии опухоли».

9. Научно-практической конференции, посвященной 120-летию первой онкологической клиники России (Москва, 2023). Доклад на тему «Тромбовоспаление – барьер на пути повышения выживаемости онкологических больных».

10. XII Международной конференции по тромбозу и гемостазу в онкологии (Бергамо, Италия, 2024). Постерные доклады: «Nets biomarkers in women with endometrial and cervical cancer», «Netosis in gynecological cancer patients during antitumor therapy».

Внедрение результатов исследования в практику

Внедрение основных положений диссертационного исследования проведено в практическую деятельность отделения опухолей молочной железы и кожи, отделения онкогинекологии 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».

Проведено внедрение материалов диссертационной работы 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

Активное участие автор принимал в выборе направления исследования, самостоятельно анализировал и систематизировал отечественную и зарубежную литературу, посвященную проблеме тромбовоспаления 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

19 работ опубликовано автором по результатам исследования, из них 12 оригинальных 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 исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Диссертация иллюстрирована 45 рисунками, 48 таблицами, клиническим примером. В библиографическом указателе 580 источников, в том числе 27 на русском и 553 на английском языках.

ГЛАВА 1. ТРОМБОЗ И ТРОМБОВОСПАЛЕНИЕ В ОНКОГИНЕКОЛОГИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Эпидемиология злокачественных новообразований женской репродуктивной системы

Несмотря на прогресс в науке и технологиях в медицине, злокачественные заболевания являются одной из злободневных тем в системе здравоохранения. При этом во всем мире отмечается неуклонный рост количества выявленных случаев злокачественных новообразований.

В Российской Федерации в 2021 г. выявлено 580 415 случаев злокачественных новообразований (из них 315 376 у женщин), что на 4,4% выше по сравнению с 2020 годом.

Ведущей локализацией в структуре онкологической заболеваемости в обоих полах является молочная железа (12,1%), частота злокачественных новообразований тела матки составляет 4,4 %, шейки матки – 2,6%, яичника – 2,3%.

Рак молочной железы является ведущей локализацией опухолей среди женщин – 22,1%, частота рака тела матки составляет 8,1%, шейки матки – 4,9%, яичника – 4,2%. В структуре онкологической заболеваемости женщин наибольший удельный вес имеют злокачественные опухоли органов репродуктивной системы – 40,1%, опухоли женских половых органов составляют 18,0% всех злокачественных новообразований у женщин. А.Д. Каприн отмечает, что РМЖ встречается у каждой пятой женщины со злокачественным заболеванием. Распространенность этой формы рака в России увеличилась практически в полтора раза, с 60,2 случая на 100 тыс. в начале века до 89,8 в 2018 году [1] (Рисунок 1.1).

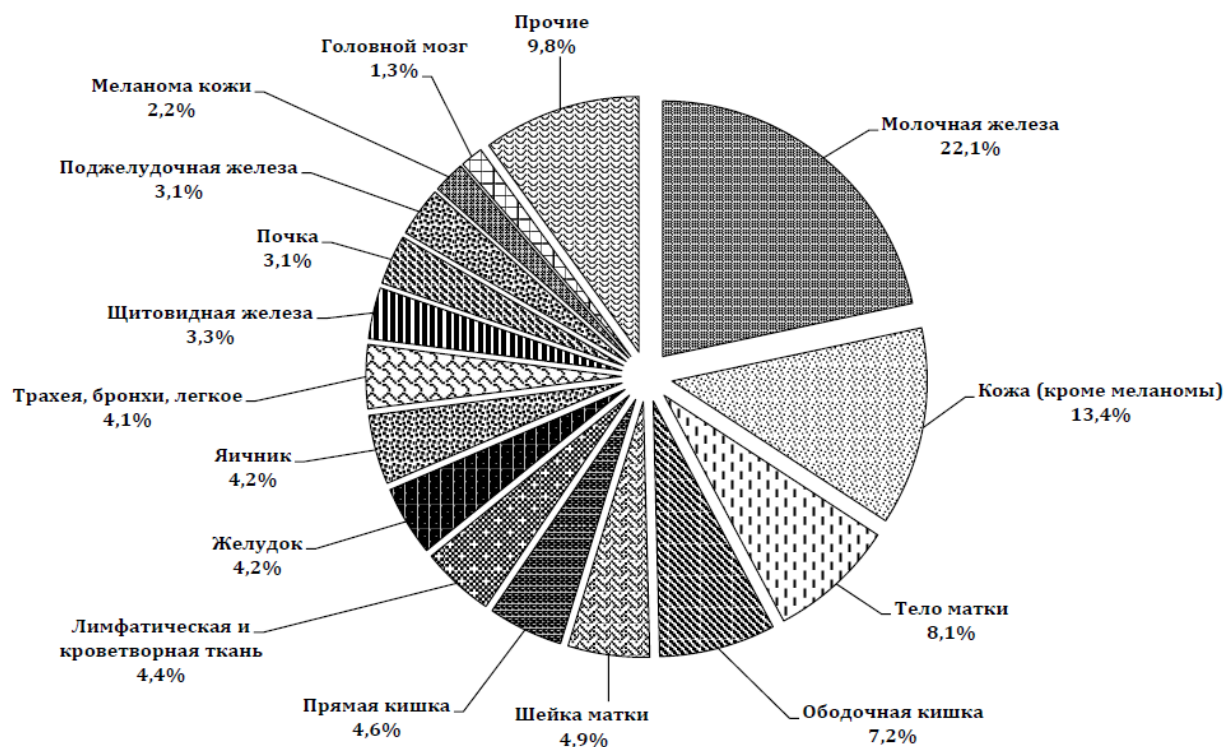


Рисунок 1.1 – Структура заболеваемости злокачественными новообразованиями женского населения России в 2021 г. [1]

Злокачественные новообразования тела матки относятся к самой распространенной патологии у пациенток с онкогинекологическими заболеваниями. Они занимают первое место. В мире отмечается неуклонный рост заболеваемости и смертности ежегодно от этой патологии. В странах Европейского союза заболеваемость РТМ встречается с частотой от 13 до 24 случаев на 100 тыс. женщин, а смертность составляет 4–5 случаев соответственно [8].

При статистической оценке «грубый» показатель заболеваемости у женщин в 2021 г. составил 403,7 (доверительный интервал: 402,4–405,1), рост за период 2011–2021 гг. – 12,7%. Стандартизованный показатель заболеваемости составил 213,6 (доверительный интервал: 212,8–214,4). За 10-летний период статистически значимого роста/снижения данного показателя не выявлено [1]!

У женщин в возрасте до 30 лет частота рака шейки матки составляет 8,4%, яичника – 7,8%, молочной железы – 5,4%. В возрастной группе 30–59 лет наибольший удельный вес отведен раку молочной железы (29,0%), частота рака

шейки матки составляет – 9,9%, тела матки – 8,7%, яичника – 6,0%. В позднем возрасте (60 лет и старше) частота рака молочной железы составляет – 19,1%, тела матки – 8,0%.

По мнению онкологов, лучший критерий социально-экономического развития общества – это высокий уровень онкологической заболеваемости при низком уровне смертности от этого класса заболеваний.

В некоторых развитых странах заболеваемость злокачественными новообразованиями выше, чем в России, а смертность ниже [9]. Изучение основ прогрессии опухоли, особенностей течения реакций тромбовоспаления и изменений в системе гемостаза у онкогинекологических пациенток имеет большое значение для организации онкологической помощи населению России, нацеленной на улучшение выживаемости.

1.2 Факторы риска тромбоза в онкологии

Арман Труссо первым выявил зависимость между раком и тромбозом [2]. У одной пятой всех пациентов в онкологии развиваются тромботические осложнения [10]. Помимо венозной тромбоэмболии (ВТЭ), у онкологических пациентов возникают и другие тромботические осложнения, в частности, артериальные тромбозы, диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС-синдром), эндокардиты, мигрирующий поверхностный тромбофлебит (синдром Труссо) [3]. Онкогинекологические заболевания в среднем увеличивают риск тромботических осложнений в 4–7 раз, но при некоторых локализациях и риск ВТЭ выше [11]. Наиболее высокий риск тромбозов у пациентов с онкогематологическими заболеваниями. Тромбозы развиваются у 10% пациентов при множественной миеломе. Высокий риск тромбозов отмечается при лимфомах и лейкозах [10]. Высокая распространенность рака легких, кишечника, предстательной и молочных желез делают статистически абсолютные значения ВТЭ у данных локализаций выше. Распространенность опухоли и ее гистологический тип также влияют на риск тромбоза. Например, аденокарцинома более тромбогенна, чем

плоскоклеточная карцинома легкого. При метастатических формах заболевания риск ВТЭ выше, чем при отграниченной опухоли. В 4–12 раз увеличивает прогрессирование и метастазирование опухоли рост исходного риска тромбоза [12]. Риск тромботических осложнений на протяжении жизни меняется у одного и того же пациента из-за различных внешних и внутренних факторов, таких как оперативное вмешательство, вид и длительность анестезии, гормональная терапия, химиотерапия, изменение стадии заболевания, возраст, воспаление, инфекции, наследственная тромбофилия, наличие центральных венозных катетеров, иммобилизация, тромбозы в анамнезе (Рисунок 1.2) [3].



Рисунок 1.2 – Факторы риска тромбоза у онкологических больных [3]

Взаимосвязь тромбоза и рака имеют двойную направленность. Идиопатические тромбозы порой являются первыми симптомами рака. Высокий риск выявления онкологического заболевания после первого эпизода

идиопатического тромбоза уже доказан. Этот риск нарастает в течение первых 6 месяцев после тромбоза с последующим медленным снижением в течение 1 года [3, 12]. Стартующий сразу после тромбоза диагностический поиск не всегда улучшает выживаемость, так как к этому моменту опухоль уже могла метастазировать. Присоединение тромбоза значительно снижает пятилетнюю выживаемость у онкологических больных. Выживаемость в течение 1 года у онкологических пациентов с тромботическими осложнениями в три раза ниже, чем без них [13].

Под факторами риска тромбоза понимают отклонения клинических, функциональных и биохимических показателей от нормы, на фоне чего резко происходит нарастание протромботического потенциала. В патогенез тромбоза вовлечено три группы факторов риска: опухоль-ассоциированные факторы, пациент-ассоциированные факторы и факторы внешней среды.

Опухоль-ассоциированные факторы

Опухолевый рост, прогрессия и метастазирование опухоли неразрывно связаны с активацией системы гемостаза, продукцией тромбина и воспалением. Опухолевая клетка обладает следующими прокоагулянтными свойствами: экспрессирует молекулы адгезии, прокоагулянтные субстанции, секретирует проангиогенные и провоспалительные цитокины, обладает профибринолитической, пропротеолитической и проагрегантной активностью [13].

Многие опухолевые клетки и клетки микроокружения опухоли выделяют в большом количестве тканевый фактор, который далее активировывает фактор X и IX, приводя к формированию тромбина и фибринового тромба. Процессы канцерогенеза, метастазирования, прогрессии опухоли и ангиогенеза также связывают с тканевым фактором [14]. Выявлена зависимость между степенью дифференцировки опухоли и количеством определяемого в ней тканевого фактора, при этом в низкодифференцированных опухолях его значительно больше [3, 15]. Клетки опухоли выделяют еще один прокоагулянт – цистеиновую протеазу,

которая непосредственно активирует X фактор, без участия VII фактора [16], и способна активировать тромбоциты.

Клетки опухоли выделяют белки-участники реакций фибринолиза – активаторы плазминогена тканевого и урокиназного типов (tPA и uPA), ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1) [17]. PAI-1 является основным ингибитором фибринолиза, повышение его концентрации снижает фибринолитическую активность, повышая тромботический риск. В 1992 году проведено исследование, результаты которого продемонстрировали экспрессию PAI-1 опухолевыми клетками поджелудочной железы на фоне повышенного протромботического статуса пациентов. Было также показано, что на фоне использования бевацизумаба растет концентрация PAI-1 и риск тромбозов, эффект устраним приемом PAI-1 ингибиторов [18].

Опухолевый рост способствует развитию дефицита естественных антикоагулянтов протеина С, антитромбина III и протеина S [19].

Клетка опухоли взаимодействует с клетками иммунной системы, моноцитами и макрофагами, в результате чего экспрессируются провоспалительные цитокины [20], такие как интерлейкин-1 (ИЛ-1), фактор некроза опухоли – альфа (ФНО-альфа) и сосудисто-эпителиальный фактор роста (СЭФР). Они способствуют выделению клетками эндотелия и моноцитами тканевого фактора и стимулируют выработку PAI-I, снижая выработку клетками эндотелия естественного антикоагулянта – тромбомодулина [3, 21]. Активированные макрофаги и некоторые другие клетки выделяют один из важнейших цитокинов, оказывающий влияние на сосудистый компонент гемостаза – фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α) [22]. Он способствует активации эндотелиоцитов, усиливает синтез и продукцию фактора Виллебранда (VWF), одного из наиболее многофункциональных компонентов гемостаза, увеличивает количество рецепторов адгезии на поверхности эндотелиоцитов [23, 24]. Влияние ФНО- α на эндотелий многообразно: он приводит к росту тромбопластиновой прокоагулянтной активности, параллельно подавляя звено антикоагулянтов. ФНО- α истощает тромбомодулин-зависимую активацию протеина С тромбином и

снижает интенсивность формирования на клеточной поверхности функционально активного комплекса протеин С/протеин S [25]. Под влиянием ФНО- α меняется фибринолитическая активность, снижается синтез эндотелиальными клетками активатора плазминогена тканевого типа (t-РА) и нарастает синтез ингибитора активатора плазминогена 1 типа (РАI-1). ФНО- α *in vitro* меняет цитоскелет клеток эндотелия и подавляет их пролиферативную активность. Он обладает непрямой цитотоксическим действием за счет стимуляции выброса IL-1 моноцитами и эндотелием, в результате чего происходит усугубление в клетках и тканях, вызванных ФНО- α морфофункциональных изменений [24, 26].

Провоспалительные цитокины способны непосредственно повреждать эндотелий, что создает протромботическую основу на его поверхности. Эндотелий выделяет белки острой фазы, а именно фактор Виллебранда, фибриноген, фактор VIII [3]. Опухолевая клетка, благодаря фрагментам сиаловой кислоты муцина, выделяемого аденокарциномами, активирует фактор X неферментным путем [3].

Клетки опухоли повышают агрегацию тромбоцитов, выделяя индукторы агрегации – тромбин и аденозин дифосфат (АДФ). АДФ посредством влияния на P2Y1 и P2Y12 рецепторы запускает активацию и агрегацию тромбоцитов [3, 27]. После активации тромбоцитов происходит выброс тромбоцитарного фактора 4, P-селектина и микрочастиц с тканевым фактором. Для активации факторов свертывания и формирования комплексов коагуляционных факторов тромбоциты предоставляют фосфолипидную поверхность [3].

Выделяемые опухолевыми клетками микрочастицы поддерживают протромботическое состояние. Микрочастицы – это небольшие мембранные везикулы, размером 0,1–1 микромметр, которые отделяются от здоровых клеток или покоящихся опухолевых клеток. При гепатосаркоме и раке молочной железы линии клеток, как было показано в исследовании, обладали прокоагулянтным потенциалом как *in vivo*, так и *in vitro*. Этот потенциал был обусловлен влиянием выделяемых ими микрочастиц. *In vivo* при нескольких видах опухолей было продемонстрировано влияние циркулирующих микрочастиц на процессы тромбообразования [28]. Прокоагулянтная способность микрочастиц связана с

экспрессией на поверхности тканевого фактора, а также с присутствием отрицательно заряженной поверхности для сборки комплексов факторов свертывания – фосфатидилсерина [29]. Geddings и соавт. у мышей с циркулирующими микрочастицами, несущими на поверхности тканевой фактор, отметили повышение активации тромбоцитов и высокую частоту тромбоза [28]. Stark и соавт. продемонстрировали экстернализацию фосфатидилэтаноламина на поверхности микрочастиц опухолевой клетки поджелудочной железы как важное звено патогенеза развития рак-ассоциированного тромбоза глубоких вен [3, 30]. Тромбогенность микрочастиц с тканевым фактором у человека доказана только при раке поджелудочной железы [3, 31].

Активированные здоровые клетки хозяина, эндотелиальные клетки и моноциты, при наличии онкологического процесса также могут выделять микрочастицы. Экспрессируемые опухолевыми клетками воспалительные цитокины активируют клетки эндотелия, моноциты, стимулируют синтез микрочастиц, содержащих тканевой фактор, тем самым способствуя развитию рак-ассоциированных тромбозов [3].

Для онкологических больных характерен лейкоцитоз, представленный преимущественно зрелыми нейтрофилами. Выраженность его коррелирует с риском ВТЭ [32] и прогнозом заболевания [33]. Тромбоциты приводят к формированию нейтрофильных внеклеточных ловушек (NETs – neutrophil extracellular trap), взаимодействуя с лейкоцитами. Выделение NETs зрелыми нейтрофилами после активации сопутствует развитию прокоагулянтного состояния [3, 34]. Лишь 20% – 25% от всех нейтрофилов способны генерировать NETs. Так называемые нейтрофилы низкой плотности производят максимальное количество NETs. Тромбоциты после активации инициируют активный выброс нейтрофилами NETs и обеспечивают создание каркаса для отложения фибрина и стабилизации тромба [3, 35].

По своему содержанию NETs представлены комбинацией ДНК, гистонов и протеаз нейтрофилов. Прежде NETs отводилась роль антимикробной защиты [36]. Однако исследования в экспериментальных моделях венозного и артериального

тромбоза у мышей, показали, что их роль велика и в процессах тромбообразования [3, 37-39].

После активации нейтрофилов запускается нетоз, утрата нейтрофилами гетерохроматических областей ядра, распад ядерной оболочки на везикулы, разрушение мембран гранул и митохондрий, что приводит к смешению цитоплазмы, кариоплазмы и антибактериальных протеаз. На отрицательно заряженных фибриллах деконденсированного хроматина, который служит скелетом для ловушки, адсорбируются белки гранул. Клеточная мембрана разрывается и содержимое клетки выбрасывается наружу, разворачиваясь в пространстве, образуя сеть [40]. Исследования Brinkmann и соавт. показали, что выделяемые в составе NETs структуры представлены нитями ДНК, сплетенными в сети с пептидил-аргинин деиминазой 4 (PAD4), гистонами, миелопероксидазой (MPO), катепсином G и эластазой нейтрофилов (NE). Гистоны в составе NETs активируют клетки эндотелия и способствуют высвобождению фактора Виллебранда [41]. Сами по себе NETs также являются основой для агрегации и активации тромбоцитов [39, 40]. NETs привлекают ряд белков, участвующих в тромбообразовании, таких как фактор Виллебранда, фибриноген, фибронектин и фактор XII, к участку повреждения. NETs самостоятельно активируют эндотелий, способствуют активации и агрегации тромбоцитов и генерации тромбина [3].

NETs многосторонне оказывают влияние на гемостаз. Они способствуют агрегации тромбоцитов и генерации тромбина в богатой тромбоцитами плазме в отсутствие тромбомодулина или тканевого фактора. Гистоны стимулируют выброс тромбоцитами неорганических полифосфатов, экстернализацию мембран-связанного фосфатидилсерина, активацию V фактора, увеличивая активность протромбиназного комплекса. Гистоны приводят к синтезу тромбина в бедной тромбоцитами плазме в присутствии тромбомодулина, вмешиваясь в тромбомодулин-опосредованную активацию протеина C. Проконгулянтным эффектом обладают и гистоны H3 и H4 [3].

В своем исследовании Teijeira и соавт. продемонстрировали, как опухолевые клетки меняют работу нейтрофилов, способствуя нетозу. NETs окутывают

опухолевые клетки, защищая их от Т-клеток и NK-клеток [42]. Именно секретируемые опухолевыми клетками хемокины, как указывают авторы, стимулируют нетоз. Модель была продемонстрирована на примере CXCR1 и CXCR2 хемокиновых рецепторов. Блокирующие антитела к рецептору CXCR1 или ингибиторы данных рецепторов (репариксин и токсин коклюша) препятствуют нетозу. Клетки опухоли в исследовании авторов вызывали нетоз, подавляемый введением репариксина. Опухолевые клетки в присутствии NETs при добавлении NK-клеток демонстрировали большую выживаемость, чем ранее обработанные ДНКазой с целью удаления с их поверхности NETs [3].

Защитные функции NETs в отношении опухолевой ткани *in vivo* были продемонстрированы у мышей с метастазами рака молочной железы, которым проводилась терапия ДНКазой или PAD4 ингибиторами. На фоне терапии отмечалось снижение числа микрометастазов. Терапия не была эффективна у мышей без Т-клеток и NK-клеток, что свидетельствует о защитной от этих клеток роли NETs. Как было продемонстрировано позднее, NETs уменьшают контакт между цитотоксичными лимфоцитами и опухолевыми клетками [3, 43].

В своем исследовании Lu-Yu Yang и соавт. продемонстрировали [44] повышенное содержание NETs при гепатоцеллюлярной карциноме, особенно при наличии метастазов. В исследовании NETs окутывали клетки гепатоцеллюлярной карциномы и обеспечивали выживаемость опухолевых клеток, повышая их инвазивный потенциал за счет внедрения NETs в клетки опухоли и активацию Toll-подобных рецепторов TLR4/9-COX2. Блокировка этих рецепторов устраняла влияние NETs. Комбинация непосредственно разрушающей NETs ДНКазы с противовоспалительными препаратами (аспирином или гидроксичлорином) эффективно снижала метастазирование у мышей с гепатоцеллюлярной карциномой [3, 45].

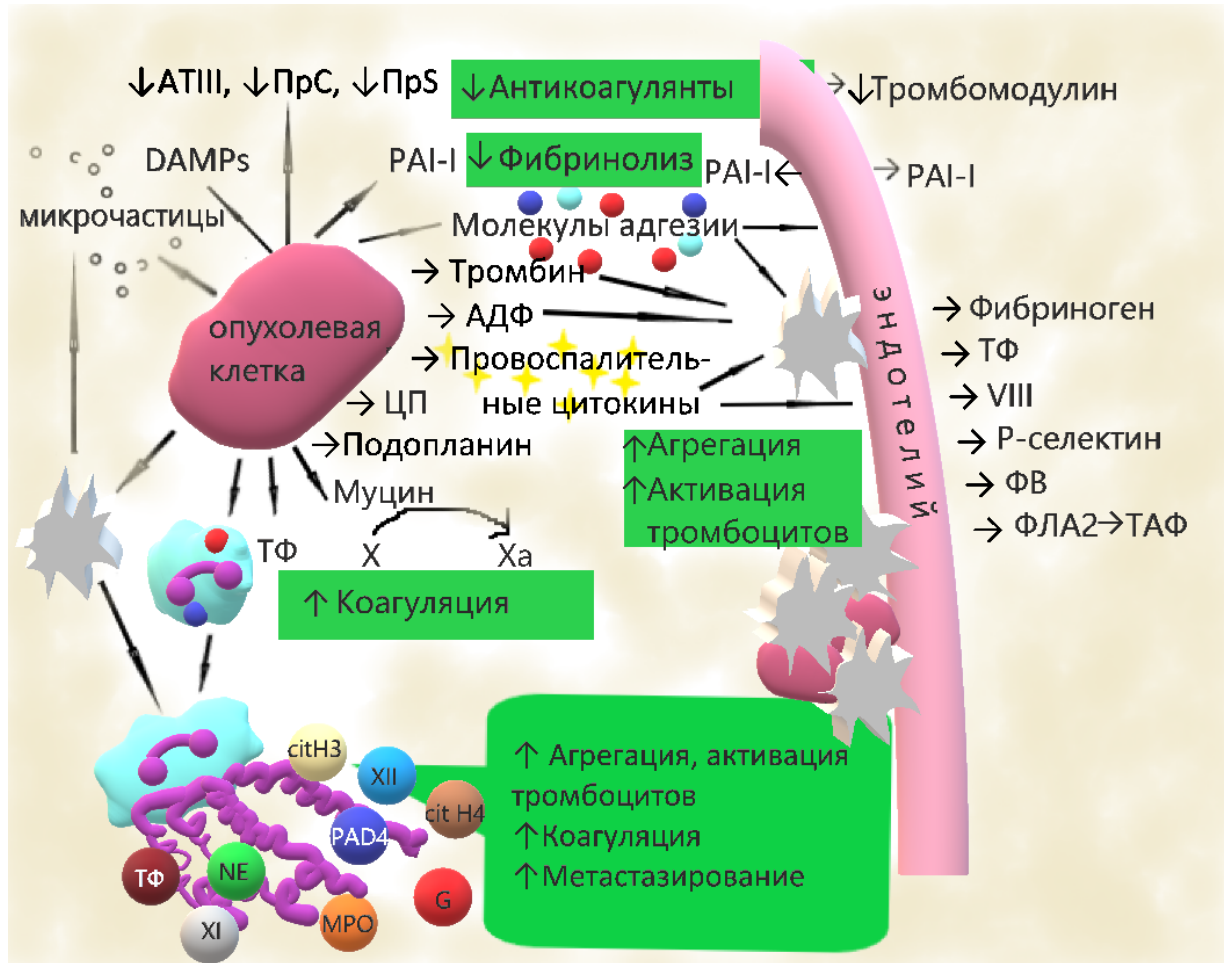
При раке происходит накоплением нейтрофилов в опухоли и нарастание риска тромбоза [46]. На различных животных моделях Demers и соавт. показали, что рост числа нейтрофилов и нетоз повышают риск в опухолевых тканях венозных тромбозов. Процесс запускают опухолевый гранулоцит-колоний-стимулирующий

фактор и другие составляющие микросреды опухоли, такие как экзосомы и ИЛ-8 [3, 39].

Тканевой фактор, связанный с NET, внутри опухоли активирует тромбоз и некроз опухоли, неоангиогенез, а также обеспечивает метаболическую поддержку опухолевым быстрорастущим клеткам. Опухолевые NETs, как источники тканевого фактора, способствуют тромбозам [39]. Проспективное наблюдательное исследование с участием 1000 пациентов с впервые выявленным раком и пациентов с прогрессией после ремиссии показало, что концентрация CitH3, как маркера интенсивности нетоза, была независимым биомаркером венозного тромбоземболизма (ВТЭ) [3, 47].

В плазме крови онкологических пациентов концентрация Р-селектина повышена. Р-селектин в норме выделяется тромбоцитами и активированными клетками эндотелия. Резкое повышение концентрации Р-селектина происходит на фоне прокоагулянтного состояния. При этом искусственное снижение концентрации Р-селектина уменьшает на мышинных моделях рака поджелудочной железы тромботический риск [48]. У онкологических пациентов Р-селектин является предиктором высокого риска ВТЭ [3, 49].

Белок подоплагин, ответственный за активацию и агрегацию тромбоцитов путем взаимодействия с С-типом лектиновых рецепторов 2 (CLEC-2 – C-type lectin receptor 2), экспрессируют рак-ассоциированные фибробласты [50]. В нескольких линиях клеток рака поджелудочной железы HPAF-II, HPAC и PL45 [48], а также VxRC-3 была выявлена экспрессия подоплагина. Снижение количества CLEC-2 рецепторов на поверхности тромбоцитов в эксперименте снижало выраженность тромбообразования. Введением неизмененных тромбоцитов эффект устранялся. Концентрация подоплагина в сосудистой стенке коррелировала с выраженностью тромбоза [51]. При колоректальном раке и раке поджелудочной железы в плазме крови пациентов были выявлены микрочастицы с подоплагинном на поверхности [52] (Рисунок 1.3).



PrS – протеин С, АТIII – антитромбин III, ТФ – тканевой фактор, PrS- протеин S, PAI-I – ингибитор активатора плазминогена 1, ФВ – фактор Виллебранда, ЦП – цистеиновая протеаза, ФЛА2 – фосфолипаза А2, citH3 – гистон H3, cit H4 – гистон H4, ТАК – тромбоцит активирующий фактор, АДФ – аденозин дифосфат, NE – эластаза нейтрофилов, G – катепсин G, DAMPTs – молекулярные фрагменты, ассоциированные с повреждениями, PAD4 – пептидил-аргинин деминаза 4

Рисунок 1.3 – Прокоагулянтная активность опухолевой клетки [3]

Пациент-ассоциированные факторы

К пациент-ассоциированным факторам относят возраст старше 65 лет [53] и раса. Так, например, риск ВТЭ у афроамериканцев выше, чем у азиатов. Влияют на риск ВТЭ сопутствующие заболевания, например, ожирение и хронические заболевания почек [3].

Отдельного внимания заслуживает тромбофилия как врожденная (генетическая тромбофилия), так и приобретенная (АФС, гипергомоцистеинемия) [3, 54].

Факторы внешней среды

Хирургия в два раза увеличивает вероятность тромбоза у пациентов с онкологическими заболеваниями по сравнению с другими больными [55]. В послеоперационном периоде риск развития тромбоза легочной артерии у онкологических пациентов в четыре раза выше, чем у пациентов без рака [3].

Данные о влиянии лучевой терапии противоречивы. У пациентов с карциномой прямой кишки и пациентов с глиомой в одном из исследований адъювантная лучевая терапия увеличивала риск венозной тромбоза в сочетании с химиотерапией или хирургическим вмешательством. Лучевая терапия у пациенток с ранними стадиями рака шейки матки не повышала этот риск [3, 56-58], как и в ряде других исследований [11].

На данный момент нет окончательного понимания патогенетических механизмов тромбообразования на фоне химиотерапии. Претендентами являются увеличение экспрессии тканевого фактора, воздействие на фибринолиз, цитотоксичность, снижение антикоагулянтного и увеличение прокоагулянтного потенциалов, повышенная активация и агрегация тромбоцитов [59, 60].

Адъювантная химиотерапия при раке молочной железы повышает риск от исходного 1% – 2% на 10% [61]. На фоне химиотерапии и тамоксифена у пациенток в перименопаузе риск развития тромбоза значительно выше, чем без терапии (8% против 0,4%) или при монотерапии тамоксифеном (8% против 2,3%) или без тамоксифена (2,8% против 0,8%) [3, 62]. Ингибиторы ароматазы (анестразол) по сравнению с тамоксифеном обладают меньшим тромбогенным действием [3, 63, 64].

У пациентов с опухолями шейки матки, яичников и легких платиносодержащие препараты увеличивают шанс возникновения тромбозов [65-67]. 5-флуороурацил вызывает тромбозы у пациентов с колоректальным раком, на фоне снижения концентрации протеина С, гипофибринолиза и токсичности в отношении клеток эндотелия [68]. L-аспарагиназа у пациентов с острым лимфобластным лейкозом повышает частоту тромбозов с 4% до 14%, снижая концентрацию антитромбина, протеина S и C, и, повышая в плазме крови

концентрацию факторов V и VIII [3, 69]. Также обладают прокоагулянтным действием митомицин С, блеомицин и кортикостероиды. На фоне использования глюкокортикоидов в плазме крови растет концентрация факторов VII, XI, VIII и фибриногена [3, 70]. Тромбогенным эффектом обладает и иммунотерапия. Леналидомид и талидомид по отдельности, а также в сочетании с дексаметазоном значительно повышают риск развития тромбозов. До сих пор не полностью изучены механизмы, лежащие в основе развития протромбогенного действия препаратов. Обсуждаются версии развития приобретенной резистентности к протеину С, эндотелиальной токсичности, а также нарушения функции, активирующего тромбоциты катепсина G [3, 71].

Бевацизумаб продемонстрировал себя как одну из причин развития артериальных и венозных тромбозов [72]. Бевацизумаб относится к группе антиангиогенных препаратов. Он представляет собой моноклональное антитело против сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР). Акситиниб, пероральный ингибитор тирозинкиназы, воздействующий на тромбоцитарные рецепторы фактора роста и рецепторы СЭФР, ассоциируется с увеличением риска мезентериальных тромбозов [73]. Как показали результаты исследований, сорафениб и санитиниб, два других таргетных препарата, повышают риск развития артериальных, но не венозных тромбозов [3, 74].

Терапия гемопоезическими факторами роста в лечении онкологических пациентов играет ключевую роль. Стимулирующие эритропоэз лекарственные средства, находят применение при лечении осложнений у онкологических пациентов в виде тяжелой анемии. При нейтропении чрезвычайно важны гранулоцит-макрофаг-колониестимулирующие препараты (ГМ-КСП) и гранулоцит-колониестимулирующие (Г-КСП) препараты, однако, они могут повышать риск развития венозной тромбоземболии (ВТЭ) [3, 75, 76].

На развитие катетер-ассоциированных тромбозов влияют различные факторы, среди которых можно выделить размеры катетера, число его просветов, местоположение в организме, расположение в сосудистой системе, метод введения и материал, из которого он изготовлен [3, 77, 78].

1.3 Идентификация риска тромбозов

В последние годы для оценки вероятности тромбозов у пациентов с онкологическими заболеваниями были созданы различные шкалы. Эти инструменты стратификации риска учитывают множественные клинические и биологические параметры. Например, в шкалах PROTECHT и Khorana проводится анализ простых клинико-лабораторных данных, тогда как в шкале Vienna дополнительно учитываются такие показатели, как P-селектин и Д-димер [3].

В настоящее время в определении риска тромбоза используют значения следующих показателей: рост концентрации в плазме фактора VIII, ТФ и растворимой формы P-селектина, рост концентрации фрагментов протромбина 1+2 и Д-димера, рост концентрации С-реактивного белка (СРБ), лейкоцитоз (более 11), низкая концентрация гемоглобина (менее 100) и тромбоцитоз (более 350) [3, 79].

На модели пациенток на фоне лечения рака молочной железы, получающих химиотерапию в амбулаторных условиях, Khorana и соавторы с использованием доступных лабораторных и клинических показателей разработали модель риска стратификации риска ВТЭ [80] (табл. 1.1). Учитываются 5 факторов [81]: опухоли с крайне высокой вероятностью развития ВТЭ получают 2 балла, опухолям с высоким риском присваивается 1 балл. Показателям шкалы оценки присвоены свои индивидуальные коэффициенты.

Пациентов по сумме набранных баллов - 0 относят к группе пациентов с низким уровнем риска, 1-2 балла - средним уровнем риска, 3 и более баллов - высоким уровнем риска [3, 82, 83].

Таблица 1.1 – Определение риска рак-ассоциированных тромбозов у амбулаторных пациентов на фоне химиотерапии [3]

Фактор риска	Баллы
Количество лейкоцитов до проведения химиотерапии ≥ 11,000/ микролитр	1
Количество тромбоцитов до проведения химиотерапии ≥ 350,000/ микролитр	1
Концентрация гемоглобина ≤ 10 г/ дл/ + индукторы гемопоэза	1

Продолжение Таблицы 1.1

Источник опухоли Высокий риск (лимфома, органы женской репродуктивной системы, мочевого пузыря, легкое, яички)	1
Очень высокий риск (желудок, поджелудочная железа)	2
Индекс массы тела Более 35 кг/м ²	1

Оценка дополнительно концентрации Р-селектина и Д-димера по данным Ау и соавт. повышает точность в расчете риска в модели стратификации риска Vienna. Отсутствие в широком доступе реактивов для определения Р-селектина является ограничением для использования модели. Разработаны и другие модели (Таблица 1.2) [3].

Таблица 1.2 – Модели стратификации риска ВТЭ у онкологических больных [3]

Название шкалы	Показатели
Шкала CONCO	Источник опухоли: - Очень высокий риск: поджелудочная железа и желудок - Высокий риск: лимфома, мочевого пузыря, легкое, яички, органы женской репродуктивной системы Гемоглобин <10 г/дл / индукторы эритропоэза Количество тромбоцитов до старта химиотерапии $\geq 350 \times 10^9/\text{л}$ Количество лейкоцитов до старта химиотерапии $> 11 \times 10^9/\text{л}$ Общесоматический статус ВОЗ ≥ 2
Шкала Vienna [81]	Шкала Khorana + Д-димер $\geq 1.44 \mu\text{г/л}$ Растворимый Р-селектин $> 53.1 \text{ нг/л}$
Шкала PROTECT [82]	Шкала Khorana + Гемцитабин Платиносодержащие препараты для химиотерапии
Шкала Tic-ONCO	Источник опухоли: очень высокий риск: поджелудочная железа, желудок высокий риск: легкие, яички, лимфома, лимфома, мочевого пузыря, органы женской репродуктивной системы Индекс массы тела $> 25 \text{ кг/м}^2$ Отягощенный наследственный анамнез ВТЭ Генетические факторы риска (полиморфизмы F5, F13 или SERPINA10)

Продолжение Таблицы 1.2

Шкала COMPASS	Концентрация тромбоцитов до начала терапии $\geq 350 \times 10^9 / \text{л}$ Опухоль-ассоциированные факторы: антрациклин или антигормональная терапия при раке молочной железы поздние стадии заболевания установленный центральный венозный катетер время с момента диагностики заболевания ≤ 6 мес. Предрасполагающие факторы риска: сердечно-сосудистые факторы риска (≥ 2 заболевания периферических артерий, ишемический инсульт, гипертоническая болезнь, ожирение, ишемическая болезнь сердца, гиперлипидемия, сахарный диабет) личный анамнез, отягощенный ВТЭ недавняя госпитализация в острой фазе заболевания Опухоли молочной железы, легких, яичников, колоректальный рак
---------------	--

Диагностика ВТЭ в онкологии основана на использовании радиологических методов. У пациентов с онкогинекологическими заболеваниями исходно повышены концентрации Д-димера, что ограничивает его использование в диагностике ВТЭ. [83]. Florian Posch и соавт. установили, что исследование Д-димера однократно не дает достоверной информации в отличие от оценки показателя в динамике. У пациентов с низким риском ВТЭ концентрация Д-димера постоянно повышена, однако, у пациентов с развившимися тромбозами отмечается предшествующий тромбозу резкий подъем его концентрации [3].

Дуплексная ультрасонография представляет собой метод выбора в диагностике тромбоза глубоких вен. Исследование имеет ограничения при диагностике внутригрудных и внутриабдоминальных тромбозов. При подозрении на эту локализацию тромбозов рекомендованы МРТ и КТ-венографии.

Контрастная венография, чувствительность которой составляет более 98%, является золотым стандартом диагностики тромбоза глубоких вен. Однако, в связи с инвазивным характером исследования, она не рекомендована на старте диагностического поиска. Последние годы контрастную венографию вытесняют КТ и МРТ-венографии [84]. КТ-венография обладает высокой чувствительностью и специфичностью в диагностике тромбоза глубоких вен. Комбинированная непрямая КТ-венография сочетает в себе оценку венозного русла легких и венографию нижних конечностей. К недостаткам исследования относится

необходимость введения большого количества контраста, большая доза облучения и высокая цена [85].

МРТ-венография обладает высокой чувствительностью и специфичностью в диагностике ВТЭ, являясь неинвазивным методом. Исследование следует рассматривать как метод выбора для пациентов с аллергической реакцией на контраст. Использование его в рутинной практике ограничено доступностью и ценой [86].

Классическими симптомами ТЭЛА являются боли в грудной клетке, тахипноэ, диспноэ, аускультативные изменения в оценке работы сердца, синусовая тахикардия. Клинические симптомы обладают лишь 85% чувствительностью и 51% специфичностью, что делает необходимым использование дополнительных инструментальных методов [87].

Ангиография легких сопровождается введением контрастного вещества в легочную артерию. Точность определения ТЭЛА составляет 98%.

Вентиляционное/перфузионное сканирование наиболее эффективно в сочетании с клиническими данными. При раке легких метод имеет трудности в интерпретации. Метод используется при диагностике хронической тромбоэмболической легочной гипертензии, а также при диагностике ТЭЛА у пациентов с почечной недостаточностью и непереносимостью контраста [88].

КТ-ангиография легких – наиболее часто используемый метод диагностики ТЭЛА в современной клинической практике. После появления современных приборов чувствительность и специфичность метода повысились с 83% до 94% и с 94% до 100% соответственно. Преимуществами метода являются высокая чувствительность и специфичность, широкая доступность, быстрая интерпретация результата и параллельная оценка сопутствующих изменений. К недостаткам можно отнести необходимость использования контраста и высокую дозу облучения [85].

1.4 Тромбовоспаление в патогенезе тромботических осложнений, прогрессии опухоли и метастазировании

Иммунная система играет важную роль в распознавании и нейтрализации опухолевых клеток. Тем не менее, она также может способствовать и прогрессированию опухоли. Естественным киллерам, Т-лимфоцитам, макрофагам и дендритным клеткам традиционно отводится основная роль в формировании противоопухолевого иммунитета. Нейтрофилы являются не только участниками противомикробной защиты, но и, как показали исследования, активными участниками опухолевого роста на всех его этапах [89-92].

В ходе одного из исследований опухоль-ассоциированные нейтрофилы (ОАН) мышей были разделены на две группы: нейтрофилы проонкогенные N2 и нейтрофилы противоопухолевые N1. С помощью антителзависимой цитотоксичности, выброса реактивных форм кислорода и стимуляции дендритных клеток и CD-8+T, а также других иммунокомпетентных клеток с презентацией опухолевых антигенов, N1-фенотип способствует разрушению злокачественных клеток. Росту опухоли напротив способствует N2 фенотип, путем восстановления внеклеточного матрикса, благоприятствующего инвазии опухоли и метастазированию. Усиление иммунной защиты происходит путем выделения проканцерогенных цитокинов (таких как онкостатин М, тромбоцитарный фактор роста, эпидермальный фактор роста, трансформирующий фактор роста β , сосудисто-эпителиальный фактор роста и фактор роста гепатоцитов) и активации лимфангиогенеза и ангиогенеза [92, 93].

Образуя так называемые "преметастатические ниши", нейтрофилы накапливаются в органах и тканях, где происходит метастазирование [94, 95]. Инфильтрация опухоли нейтрофилами отмечалась при плохом прогнозе у пациентов с опухолями почек, головы и шеи, толстой кишки, меланомой, и гепатоцеллюлярной карциномой. В опухолевых нейтрофилах миелопероксидаза (МРО) присутствует в больших количествах. От всех клеток, выделенных из опухолевой ткани, опухоль ассоциированные нейтрофилы составляют 5% - 25%.

Нейтрофилы демонстрируют активный фагоцитоз и способность к выделению перекиси водорода при выделении их из опухоли [92, 96].

Нейтрофилы реализуют свои анти- и проканцерогенные свойства в зависимости от цитокинового профиля, микроокружения и вида опухоли. Рост популяции проонкогенных нейтрофилов стимулирует трансформирующий фактор роста β , подавление которого способствует росту количества нейтрофилов, вырабатывающих провоспалительные цитокины [97]. Противоопухолевые механизмы нейтрофилов, описанные в литературе, заключаются в расщеплении нейтрофильной эластазой циклина E, белка, регулирующего клеточную пролиферацию в опухоли. В результате клетки опухоли становятся более доступны для цитотоксичных Т-лимфоцитов [92, 98].

1.4.1 Внеклеточные ловушки нейтрофилов в онкогенезе и тромбогенезе

Внутриклеточные ловушки нейтрофилов представляют собой производные нейтрофилов, состоящие из гистонов и нитей ДНК гистонов, способные к захвату, удержанию и уничтожению патогенов [99]. Volker Brinkmann и Arturo Zychlinsky открыли внутриклеточные ловушки нейтрофилов в 2004 году [36]. Была продемонстрирована роль внеклеточных ловушек нейтрофилов при таких неинфекционных состояниях, как аутоиммунные заболевания (системная красная волчанка, псориаз, ревматоидный артрит) [100-102]. Внеклеточные ловушки нейтрофилов являются важными участниками патогенеза тромбоза, атеросклероза, васкулитов, сахарного диабета, и других заболеваний [92, 103-105].

Формирование внеклеточных ловушек в нейтрофилах носит название NETоз. В нем участвуют различные сигнальные пути и механизмы. NETоз является одним из видов гибели клеток, отличным от апоптоза и некроза. Он характеризуется выбросом содержимого гранул и деконденсированного хроматина во внеклеточное пространство. К основным процессам, составляющим NETоза, относятся: производство реактивных форм кислорода, перемещение к ядру миелопероксидазы и эластазы нейтрофилов, деконденсация хроматина и модификация гистонов [106].

NETоз начинается с активации нейтрофилов, за которой следует синтез реактивных форм кислорода (РФК) под действием НАФН оксидазы [107]. В опухолевой ткани активируют NETоз также гранулоцит, стимулирующий фактор роста (ГСФР) и интерлейкин-8 эндотелия [108]. Клетки эндотелия под влиянием ИЛ-8, как было показано, могут синтезировать внеклеточные ловушки нейтрофилов при совместной культивации с нейтрофилами [109]. При раке количество нейтрофилов растет, что связано с гиперпродукцией гранулоцит стимулирующего фактора. На этом фоне усиливается интенсивность NETs с синтезом реактивных форм кислорода [92].

В процессе NETоза нейтрофилы выделяют часть ядра или ядро целиком – suicidal NETosis (суицидальный нетоз). Вид NETоза, при котором сохраняется целостность клеточной мембраны носит название vital NETosis (витальный нетоз). Химические стимулы запускают преимущественно суицидальный нетоз, который по времени занимает 3 - 4 часа, в отличие от витального нетоза, активизируемого бактериями и требующего меньше времени на запуск. При суицидальном нетозе происходит сначала деконденсация хроматина, далее дегидратация ядерной оболочки с последующим выбросом клеточного содержимого через разрыв клеточной мембраны. Вслед за активацией нейтрофилов следует активация НАДФН (никотинамид аденин динуклеотид фосфат - Н), активизация путей Raf-MEK-ERK и PKC и синтез реактивных форм кислорода. Протеин-аргинина деиминаза 4 (PAD4) после активации и гиперцитруллиновые гистоны усиливают деконденсацию хроматина. Эластаза нейтрофилов (NE) и MPO и выделяются из азурофильных гранул и разрушают актиновые филаменты. При этом эластаза нейтрофилов оказывает влияние на другие гистоны и способствует транслокации ядра, протеолизу ядерной оболочки и выходу хроматина в цитоплазму, где он смешивается с белками плазмы. Гасдермин D (GSDMD) запускает процесс пироптоза в макрофагах. Эластаза нейтрофилов ферментативно активирует гасдермин D. Его активная форма GSDMD-NT участвует в образовании пор на поверхности клеточной мембраны и мембран гранул, через которые и происходит внеклеточных ловушек нейтрофилов. (Рисунок 1.4) [110].

Витальный нетоз не приводит к гибели нейтрофила, и он остается способным к хемотаксису и фагоцитозу. Перенос ДНК из ядра во внеклеточное пространство при витальном нетозе осуществляется при помощи микровезикул [92]. В случае утраты ядра нейтрофилом, он получает название цитопласт, но при этом все еще обладает определенной активностью [110, 258].

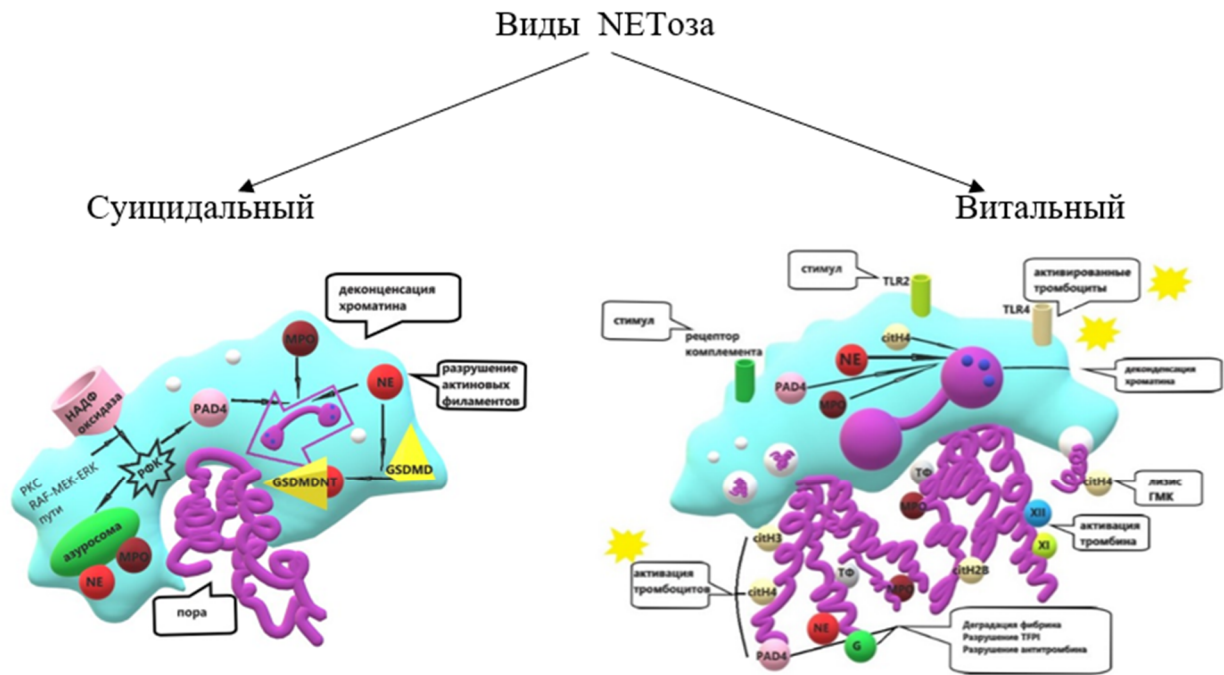


Рисунок 1.4 – Виды NETоза [110]

Понимание важности нейтрофилов для прогрессии опухоли было получено учеными в результате открытия внеклеточных ловушек нейтрофилов. Впервые именно у пациентов с саркомой Юинга в ткани опухоли были обнаружены нейтрофилы, синтезирующие внеклеточные ловушки. Нейтрофилы и внеклеточные ловушки были обнаружены только у пациентов с метастазами и рецидивирующим течением заболевания [92]. Внеклеточные ловушки нейтрофилов в больших количествах были далее выявлены в плазме крови у пациентов с опухолями легких, кишки, мочевого пузыря и поджелудочной железы, а также обнаружены у пациентов при раке легких в мокроте и тканях легкого. В экспериментах у двух трансгенных моделей мышей, RIP1-Tag2 инсулиномы и

MMTV-РyMT рака молочной железы, отмечалась повышенная инфильтрация нейтрофилами ткани легких и сердца, а также повреждения сосудов. Результатом массивного НЕТоза явились комплексы тромбоцитов с нейтрофилами, обнаруженные в почках. Полное восстановление функций почек происходило при введении ДНКазы. Полученные данные подтверждают вклад НЕТоза у онкологических пациентов в патогенез полиорганной недостаточности [111].

Компоненты внеклеточных ловушек нейтрофилов могут быть губительны в отношении опухолевых клеток, как, например, для клеток меланомы губительна МРО, при дефиците которой выше частота рецидивов и прогрессии опухоли [112]. Гистоны внеклеточных ловушек нейтрофилов лизируя опухолевые клетки проникают в опухоль и разрушают сосудистую сеть и клетки эпителия. Внеклеточные ловушки нейтрофилов привлекают в опухоль дендритные клетки и обладают антиангиогенными свойствами [108,113]. Протеазы внеклеточных ловушек способствуют метастазированию разрушая внеклеточный матрикс. При раке легкого выделяемая внеклеточными ловушками нейтрофилов MMP-9 (матриксная металлопротеиназа 9) блокирует апоптоз и обеспечивает миграцию, инвазию и метастазирование клеток опухоли [114-116]. Как показали исследования, взаимодействие внеклеточных ловушек с опухолевыми клетками в большинстве случаев облегчает формирование метастазов [117]. На моделях мышей было показано, что адгезия опухолевых клеток легкого на активированных нейтрофилах повышена. Борьба с адгезией удавалось при введении ДНКазы, разрушающей компоненты внеклеточных ловушек [117]. Адгезия опухолевых клеток на внеклеточных ловушках нейтрофилов происходит при участии таких посредников, как интегрины $\beta 1$ [118], $\alpha 5\beta 1$, $\alpha \nu\beta 3$ и $\alpha \nu\beta 5$ [92, 119].

Фиксируясь к эндотелию, внеклеточные ловушки захватывают клетки опухоли нитями ДНК из кровотока и через 48 часов в печени уже обнаруживаются микрометастазы. Окончательное формирование метастаза происходит в течение 2 недель после попадания в кровоток клеток опухоли. А значит есть временной интервал для предотвращения его формирования, например, путем введения ингибиторов эластаз или ДНКаз [117]. Таким образом, НЕТоз является важной

составляющей метастазирования и возможной мишенью для разработки новых эффективных противоопухолевых стратегий (Рисунок 1.5) [92].

На мышинных моделях колоректального рака с метастазами при плохом прогнозе выживаемости количество внеклеточных ловушек нейтрофилов было повышено внутри опухолевой ткани, а концентрация маркеров нетоза (комплексов МПО-ДНК) была повышена в плазме крови. Более медленный рост опухоли с низкой интенсивностью метастазирования вызывало подкожное введение опухолевых имплантов у мышей, генетически модифицированных PAD4-KO, у которых NETоз был невозможен. У этой линии мышей определяли активный апоптоз и медленную пролиферацию клеток, низкая интенсивность синтеза АТФ в них, а также низкую плотность митохондриальной ДНК и митохондрий. На фоне проведения терапии ДНКазой у мышей отмечался медленный рост опухоли. Рост опухоли и митохондриальный биогенез активировало введение извлеченной из внеклеточных ловушек нейтрофилов эластазы нейтрофилов [120].

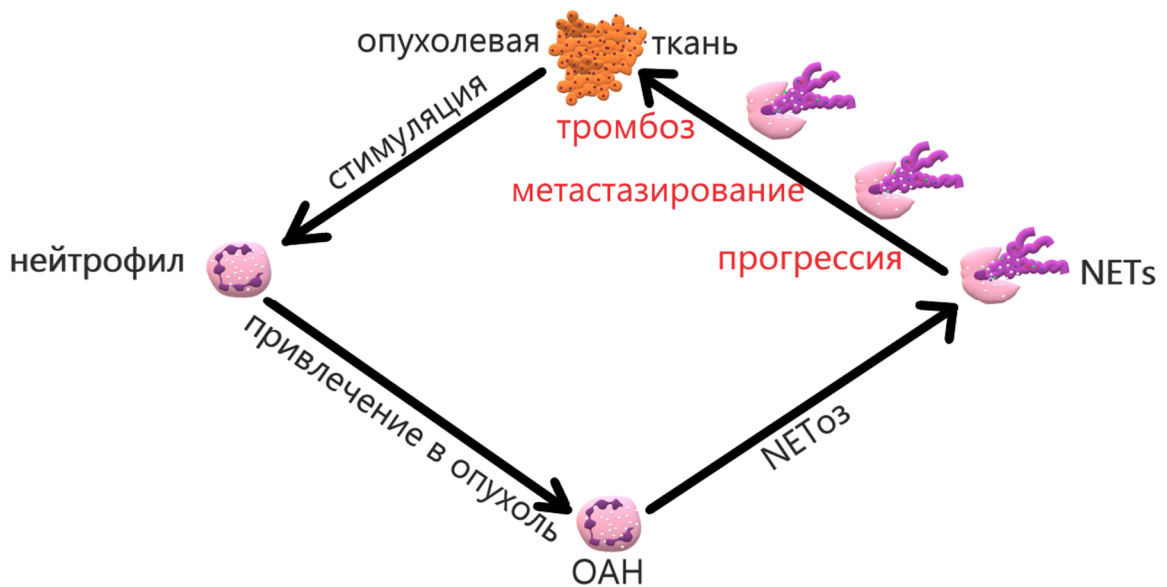


Рисунок 1.5 – Взаимодействия NETs, циркулирующих нейтрофилов, опухолевых клеток и опухоль-ассоциированных нейтрофилов (OAN) [92]

Внеклеточные ловушки нейтрофилов способствуют метастазированию и активируют «покоящиеся» клетки опухоли. Проникая во внеклеточный матрикс, внеклеточные ловушки нейтрофилов приводят к разрыву и ремоделированию

ламелина, выставляют новые эпитопы, активируют интегрины и FAK/ERK/MLCK/YAP пути, запуская при этом пролиферацию клеток [92, 121].

Внеклеточные ловушки нейтрофилов способствуют повышению агрегации тромбоцитов, активируют коагуляцию и сами являются для будущих тромбов строительным материалом [122]. На мышинных моделях рака молочной железы был продемонстрирован рост количества нейтрофилов в опухоли в период ее роста. Когда маркеры нетоза (цитруллинированный гистон H3 (CitH3) и ДНК) начинают циркулировать в плазме крови в более поздние сроки заболевания происходят первые тромбозы. На фоне стимуляции нейтрофилов мышинных моделей хронического миеломного лейкоза и рака молочной железы происходит формирование внеклеточных ловушек нейтрофилов с последующим скорым тромбообразованием [108, 122]. Прогноз для онкологических больных с нейтрофилией крайне неблагоприятный. Продуцируемый рядом опухолей гранулоцит колоний стимулирующий фактор (ГКСФ) повышает количество нейтрофилов и усиливает активацию их. Введение ГКСФ здоровым мышам запускает гиперцитруллинизацию H3 гистона в нейтрофилах и повышению интенсивности синтеза внеклеточных ловушек [108, 122]. Под влиянием внеклеточных ловушек нейтрофилов происходит формирование эритроцитарных тромбов, выделение фактора Виллебранда, активация и агрегация тромбоцитов. При стимуляции низкими дозами ГКСФ у мышинных моделей опухолей молочной железы резко возрастала концентрация внеклеточных ловушек нейтрофилов, укорачивалось время кровотечения и происходило микротромбообразование в почках и легких [92, 108, 122].

1.4.2 Фактор фон Виллебранда и ADAMTS13 в патогенезе тромботической микроангиопатии у онкогинекологических пациенток

Фактор фон Виллебранда (VWF) представляет собой синтезируемый в клетках эндотелия и мегакариоцитах гликопротеин. Ген VWF содержит 52 экзона, локализуется в коротком плече 12 хромосомы и является одним из самых крупных генов в организме. VWF депонируется в тельцах Вайбеля-Паладе клеток эндотелия и гранулах тромбоцитов. Зрелый мономер VWF состоит из трех модулей: А, С и D [123]. Димеризуются мономеры фактора Виллебранда в эндоплазматическом ретикулуме через С-концевые цистеиновые домены. Димеры собираются в мультимеры в комплексе Гольджи через домен D3 [124]. Мультимеры VWF, особенно мультимер UL-VWF, обладают выраженными протромботическими свойствами [125].

Фактор фон Виллебранда привлекает тромбоциты к местам повреждения эндотелия с дальнейшей активацией и агрегации их [126]. Размер фактора фон Виллебранда влияет на то, как будет проявляться его активность. Сверхбольшие мультимеры фактора фон Виллебранда (UL-VWF) могут вызвать массивное тромбообразование привлекая спонтанно большое количество тромбоцитов и других клеток. Специфическая металлопротеиназа ADAMTS13 регулирует работу фактора фон Виллебранда. ADAMTS13 разрушает в домене А2 VWF пептидную связь Tyr1605-Met1606. В 1996 году впервые была обнаружена протеиназа плазмы, способная взаимодействовать с VWF. Расщепляя мультимеры фактора фон Виллебранда протеиназа, способствует *in vivo* снижению его протромботического потенциала. В 2001 году впервые была синтезирована металлопротеиназа ADAMTS13 [128, 129].

Тромбоциты в неактивном состоянии в норме циркулируют в плазме крови. Формирование комплексов из тромбоцитов, фибриногена, фибрина и фактора фон Виллебранда происходит на фоне роста опухоли. Опухолевые клетки синтезируют АДФ, активируют тромбоциты и способствуют повышению экспрессии на их поверхности рецепторов GPIIb/IIIa. После связывания VWF с рецептором GPIIb/IIIa

активируется синтез простагландинов. Порочный круг замыкается в результате дальнейшей активации адгезии и агрегации тромбоцитов с образованием фибриново-тромбоцитарных тромбов устойчивых к фибринолизу.

ADAMTS13 относится к группе пептидных белков ADAM (A Disintegrin And Metalloproteinase), функция которых заключается в расщеплении внеклеточных доменов трансмембранных протеинов. На фоне циркуляции антител или при наличии мутации в активном центре металлопротеиназы развивается дефицит ADAMTS13 (количества либо активности). Это влечет за собой рост концентрации мультимеров фактора фон Виллебранда, повышению агрегационной способности тромбоцитов и микротромбообразованию [130]. Тяжелый дефицит ADAMTS13 с системным тромбозом микрососудов присутствует при тромботической тромбоцитопенической пурпуре (ТТП) [131].

Несколько доменов входят в состав ADAMTS13: дезинтегриноподобный домен (D), металлопротеазный домен (M), спейсерный домен (S), домен тромбоспондина типа 1 (T), домен, богатый цистеином (C), два CUB (комплемент c1r/c1s, эпидермальный фактор роста морского ежа и костный морфогенетический белок) и семь повторов тромбоспондина типа 1 (T2–8) [132, 133]. Различные домены ADAMTS13 способны к связыванию с фактором фон Виллебранда. При отсутствии спейсерного домена протеолитическая активность металлопротеиназы резко снижается (Рисунок 1.6) [129, 134].

В норме в плазме крови концентрация ADAMTS13 составляет 0,7 - 1,4 мкг/мл. ADAMTS13 синтезируется в основном в звездчатых клетках печени, откуда и попадает в циркуляцию [136]. На моделях крыс с стеатогепатитом и холестазом продемонстрирован рост активности ADAMTS13 [136]. В эндотелии сосудов ADAMTS13 также может синтезироваться в небольшом количестве, но с учетом общей площади эндотелия, роль этого источника очень велика. ADAMTS13 вслед за синтезом клетками эндотелия расщепляет прикрепленные к поверхности эндотелия мультимеры фактора Виллебранда [137].

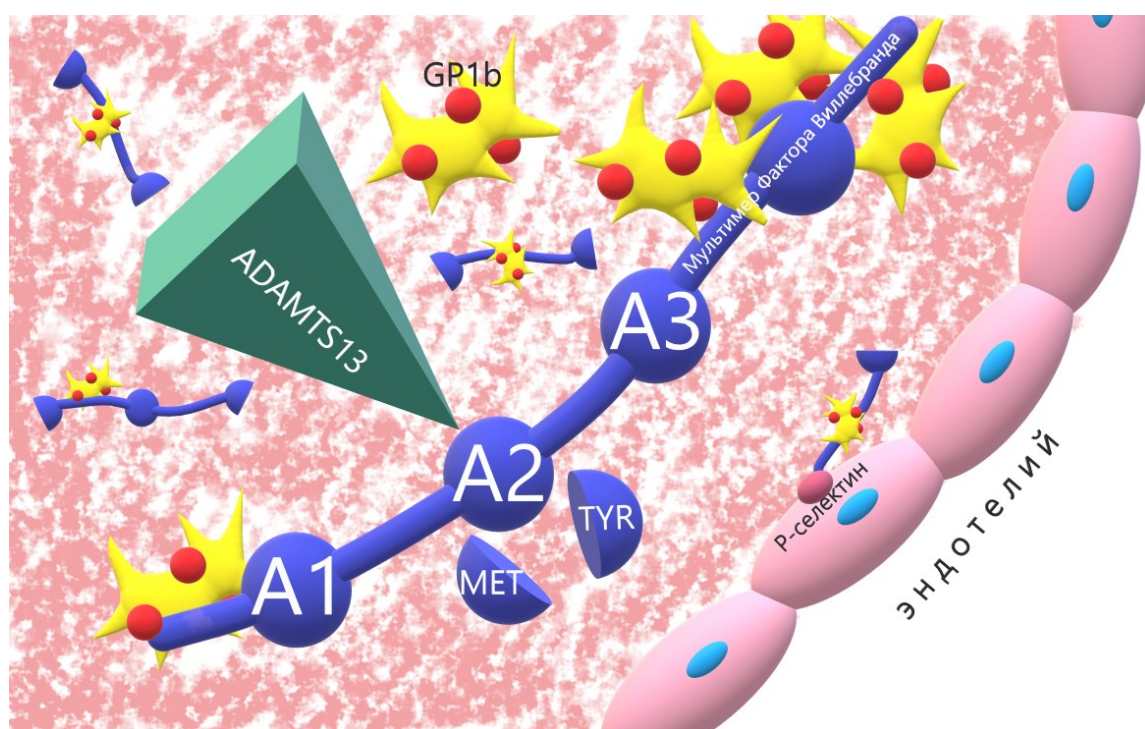


Рисунок 1.6 – Взаимодействие фактора фон Виллебранда и ADAMTS13 [129, 135]

В зависимости от клеточной среды ADAMTS13 проявляет как антиангиогенные, так и проангиогенные свойства. Рекombинантный ADAMTS13, влияя на эндотелиальные клетки пупочной вены человека, реализует свое проангиогенное действие, запускает миграцию клеток и активирует синтез капиллярноподобных структур [138]. Антиангиогенные свойства ADAMTS13 демонстрирует подавляя фактор роста сосудистого эндотелия .

Для нормального функционирования фактора фон Виллебранда необходимы три его домена A1-A2-A3, содержащие участки связывания GPIIb с тромбоцитами (A1), коллагеном субэндотелиального матрикса (A1 и A3) и расщепляемую ADAMTS13 пептидную связь (A2). Фактор фон Виллебранда за счет активированных на UL-VWF тромбоцитов привлекает и лейкоциты [139]. D'D3 домен фактора фон Виллебранда взаимодействует с P-селектин гликопротеиновым лигандом 1 (PSGL-1, P-selectin glycoprotein ligand 1) лейкоцитов и лейкоцитарным интегрином b2 [129, 140]. Мультимеры фактора фон Виллебранда образуют сеть, и в конечном итоге тромб, связываясь с внеклеточными ловушками нейтрофилов, тромбоцитами и лейкоцитами [103]. ДНКаза I за счет расщепления ДНК NETs, и

ADAMTS13 за счет расщепления мультимеров VWF, потенциально в состоянии контролировать размеры сформированных тромбов [141, 142].

Концентрация фактора фон Виллебранда у онкологических пациентов выше, а концентрация ADAMTS13 ниже по сравнению со здоровыми лицами, как показали проведенные исследования. Помимо этого, данные изменения показателей коррелируют со стадией заболевания. У онкологических пациентов с тромбозами описана как сниженная, так и повышенная активность ADAMTS13. В настоящий момент не установлено зависимости тромботического риска от концентрации и активности ADAMTS13. Однако, у онкологических пациентов выявлена зависимость между концентрацией фактора фон Виллебранда, активностью ADAMTS13 и риском тромбообразования [143]. У пациентов, у которых в течение 6 месяцев развивался тромбоз, концентрация фактора фон Виллебранда была выше. У пациентов с прогрессией опухоли концентрация фактора фон Виллебранда значительно росла, при снижении активности ADAMTS13 [144].

Механизм, вызывающий снижение концентрации ADAMTS13 в плазме крови онкологических пациентов не до конца изучен. Экспрессию внеклеточных протеиназ регулируют различные онкогены, непосредственно нарушающие работу металлопротеиназы ADAMTS13 [145].

При микроангиопатической гемолитической анемии (МАГА) у онкологических больных гемолиз и тромбоцитопения по одной из версий могут являться результатом механического воздействия в просвете сосудов на клетки крови опухолевых эмболов [146]. При распространенных формах рака яичников или муцин-продуцирующей аденокарциноме яичников с высокой частотой выявлялась микроангиопатия [147, 148]. В проспективном исследовании частота ТМА у пациентов с метастатическим раком яичников составила 5,7% [149]. Исследования продемонстрировали также связь между ТМА и раком легких (9,5%) опухолями желудка (26,2%), раком простаты (13,7%) и опухолями молочной железы (21,4%), аденокарциномой и лимфомой поджелудочной железы [150-151].

В настоящий момент пристальное внимание уделяется врожденному и приобретенному дефициту металлопротеиназы ADAMTS13, ее ингибиторов, а также концентрации и активности фактора Виллебранда как потенциальным маркерам риска развития тромботических осложнений. Опухолевые клетки в процессе стремительного роста опухолевой ткани повреждают и активируют эндотелий, выделяя тканевой фактор, цистеиновую протеазу, мультимеры фактора фон Виллебранда. Происходит интенсивное потребление металлопротеиназы ADAMTS13, что в итоге ведет к снижению ее концентрации и активности. Первичная ТМА подразумевает врожденный дефицит ADAMTS13, а вторичная формируется на фоне аутоантителообразования. Нарушение баланса ADAMTS13/VWF на ранних этапах онкогенеза вызвано ростом металлопротеиназы в ответ на избыточную экспрессию эндотелием UL-VWF. Между распространенностью опухолевой ткани и степенью активации эндотелия существует прямая зависимость [152]. В процессе роста опухоли и прогрессии заболевания наступает этап истощения ADAMTS13. Сверхкрупные полимеры фактора фон Виллебранда при дефиците ADAMTS13, относительном (антитела) или абсолютном, повышают агрегацию тромбоцитов и способствуют формированию тромбоцитарно-опухолевых эмболов. Муцин, секретлируемый тканью многих опухолей, вызывает дисфункцию эндотелия, так же являясь на фоне опухолевого роста одним из звеньев патогенеза ТМА [153].

1.5 Наследственная тромбофилия у онкогинекологических пациенток

У онкологических пациентов риск тромбоза сосудов повышен в 6–7 раз по сравнению с пациентами без рака. С 1993 года были последовательно открыты полиморфизмы и мутации генов, кодирующих некоторые ферменты и факторы свертывания, предрасполагающие к тромбозу: мутация фактора V Лейден, протромбина G20210, метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) C677T и PAI-I [24]. Их роль в возникновении тромбоза, особенно у онкологических больных, до сих пор остается спорной. Как оказалось, встречаются в общей популяции чаще

выявленные генетические дефекты, чем открытые ранее дефициты естественных антикоагулянтов антитромбина III, протеина C и S [24].

Мутация V фактора Лейден (открыта в 1993 году) встречается у 1% – 7% жителей Европы и редко или отсутствует у лиц африканского, японского или коренного американского происхождения [154]. При наличии мутации происходит замена аминокислоты аргинина в 506 положении V фактора на глутамин, что препятствует нормальной инактивации активированным протеином C фактора V [24]. Мутация фактора V (FV) Leiden была описана как основная причина резистентности к активированному протеину C. Исследования, в которых FV Leiden оценивали, как фактор риска рак-ассоциированного тромбоза, немногочисленны и показали противоречивые результаты. В исследовании случай-контроль частота FV Leiden была выше у пациентов с опухолями, которые также имели тромбоз (16 из 178 (9%)), по сравнению с онкологическими пациентами без тромбоза (1 из 27 (3,7%)) [54]. Еще в одном исследовании случай-контроль была обнаружена связь между FV Leiden и ВТЭ [155]. Наличие мутации FV Leiden было связано с ВТЭ у женщин на фоне тамоксифена. Однако в других исследованиях случай-контроль [156], а также в проспективном исследовании [157] мутация FV Leiden не была идентифицирована как фактор риска тромбоза.

Мутация протромбина G20210A (FII), открытая в 1996 году, встречается в популяции с частотой 0,7% – 4% [158]. В исследованиях Decousu и соавт. [159], Mandalà и соавт. [160], Ozkan и соавт. [161] и Heraudeau соавт. [162] не была доказана связь между наличием мутации протромбина G20210A и риском ВТЭ. Такие же данные получены Ramacciotti и соавт. [163], Sciasca и соавт. [164], Eroglu и соавт., которые не выявили существенной роли мутации в риске ВТЭ у онкологических больных. Kennedy и соавт. [156] показали, что мутация протромбина G20210A является фактором, способствующим развитию ВТЭ у онкологических больных. Blom и соавт. [54] выявили, что носители мутации протромбина G20210A имеют более высокий риск развития тромбоза.

Оба патогенных варианта чаще всего встречаются в гетерозиготной форме (называемой состоянием носительства) вместе или по отдельности. Пациенты без

онкологических заболеваний с гетерозиготной мутацией FV Leiden или FII имеют умеренный риск тромбоза и в 3,8, и 4,9 раза соответственно более склонны к образованию первого тромба. Однако если больной является носителем обеих гетерозиготных мутаций, то риск становится выше и увеличивается до 20 раз. Гомозиготные пациенты с мутациями FII и FV очень редко встречаются в общей популяции [154].

Среди генетических причин снижения фибринолиза в настоящее время установлена роль генетически обусловленных высоких концентраций PAI-I [24]. Экспрессия PAI-I модулируется генетическими полиморфизмами, из которых наиболее распространен вариант вставки/удаления гуанозинового нуклеотида (4G>5G). Наличие полиморфизма способствует повышению уровня экспрессии PAI-1 в плазме, что обуславливает гипофибринолитическое состояние [165]. PAI-1 оказывает двойное действие, нарушая, с одной стороны, активацию плазминогена, приводя к нарастанию риска тромбоэмболических осложнений, с другой – подавляя апоптоз. Так как, помимо подавления фибринолиза, происходит активация коагуляционного каскада и активация тромбоцитов, рост концентрации PAI-1 у онкологических пациентов приводит к снижению апоптоза, прогрессии опухоли и повышению риска тромбоза. Определение концентрации ингибиторов фибринолиза (в частности, PAI-1) должно занять важное место в прогнозировании у онкологического больного повышения тромботического риска [166].

Выявленные различные полиморфизмы и мутации генов ферментов участников обмена гомоцистеина (MTHFR, MTHFD, MTRR, MTR, CBS, BHMT, TYMS, TCN 2) [167-169] являются одной из причин развития дефектов нервной трубки плода, сосудистых осложнений [170, 171] и появления различных видов опухолей. У гена фермента MTR в настоящее время известно 26150 полиморфизмов, у гена фермента MTRR 9461 полиморфизм, у гена MTHFR 6375 полиморфизмов. Полиморфизм гена MTR A2756G связывают с развитием рака шейки матки и рака тела матки [172, 173]. Полиморфизмы генов MTHFR C677T [174] и A1298C [175] также связывают с развитием опухолей, включая рак тела матки [176].

1.6 Циркуляция антифосфолипидных антител у онкогинекологических пациенток

Антифосфолипидные антитела представляют собой аутоантитела к анионным фосфолипидам и белково-фосфолипидным комплексам. В настоящее время выделяют следующие антифосфолипидные антитела: анти- β 2-гликопротеин I (анти- β 2-GPI), волчаночный антикоагулянт (ВА), антикардиолипин (АКЛ), антифосфатидилсерин (АФС), антифосфатидилхолин (АФХ), антифосфатидилинозитол (АФИ), антифосфатидилэтаноламин (АФЭ) и антипротромбиновые (АПА) антитела. Для диагностики антифосфолипидного синдрома (АФС) используются только анти- β 2-GPI (IgG и IgM), АКЛ (IgG и IgM) и ВА согласно Сиднейским критериям. Дополнительно к данным лабораторной диагностики критерии включают анамнестические данные: венозные и артериальные тромбозы в анамнезе, осложнения беременности (выкидыши, преждевременные роды и внутриутробная гибель плода) [177].

Первичный АФС развивается в отсутствии других аутоиммунных заболеваний. Вторичный АФС определяют на фоне таких системных заболеваний, как синдром Шёгрена, системная красная волчанка (СКВ), ревматоидный артрит и системный васкулит. Распространенность АФА составляет 50 случаев на 100 000 человек, а заболеваемость АФС - 2,1 новых случая на 100 000 человек в год. Распространенность АФА в общей популяции составляет 5%, и не у всех носителей АФА при этом развивается АФС [3]. АФС встречается чаще среди пожилых с хроническими заболеваниями пациентов [177].

В многочисленных исследованиях показан рост концентрации антифосфолипидных антител у онкологических пациентов [178, 179]. Среди онкологических пациентов частота АФЛ-позитивных составляет 5-70%. У пациентов со злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта, легких и мочеполовой системы антифосфолипидные антитела чаще выявляются [178]. Циркуляция антифосфолипидных антител может являться

одним из звеньев патогенеза тромбоза при раке, учитывая тот факт, что риск тромбоза у онкологических пациентов в 4–60 раз выше, чем у здоровых лиц.

В одном исследовании у 17% ВА-положительных пациентов с аутоиммунными заболеваниями (преимущественно СКВ) выявили онкологические заболевания [180]. Различные виды опухолей имели 20% из 72 АФА-положительных пациентов, по данным другого исследования [181]. В течение 4 лет наблюдение за 360 пациентами с выявленной циркуляцией АФА выявило у четырех пациентов развитие неходжкинской лимфомы. Показатель заболеваемости при этом оказался намного выше, чем в общей популяции. За время наблюдения у одной пациентки развился рак молочной железы. Исследователи пришли к выводу о том, что циркуляция АФА способствует повышению риска развития онкологических заболеваний [178, 182]. Из 4756 онкологических пациентов с циркуляцией антикардиолипидных антител в исследовании Endler G. и соавт. 184 умерли. От рака из них умерло в 2,6 раза больше человек, чем в обычной популяции [183]. 13,9% пациентов скончались от онкологических заболеваний в другом наблюдательном исследовании, у 1000 пациентов из которых была выявлена циркуляция АФА [184]. Рак, по данным международного регистра CAPS, их всех пациентов с CAPS выявлен у 9% [185, 186].

Под серонегативным АФС понимают АФС с типичной клинической картиной в отсутствие подтверждающих лабораторных показателей [187]. Онкологические заболевания встречаются у серонегативных пациентов нередко. Asherson R. и соавт. в 2007 г. описали клинический случай 61-летней пациентки с тромбозом без циркуляции АФА. Впоследствии у нее выявили рак молочной железы [188]. Рецидив ТГВ развился у 38-летней женщины без АФА, у которой позднее определили рак яичников [189]. В настоящее время очевидно наличие АФА-опосредованных механизмов патогенеза злокачественного роста.

Роль АФА в патогенезе тромбоза у онкологических пациентов изучена мало. Предположительно он связан с иммунотерапией, воспалением при раке и противоопухолевым иммунным ответом [177]. Катастрофический антифосфолипидный синдром (КАФС), состояние с массивным

тромбообразованием и полиорганной недостаточностью, приводящее к летальному исходу, также может развиваться при раке. При анализе международного регистра CAPS 16% из 500 пациентов с CAPS имели онкогинекологические заболевания, в основном лейкозы и лимфомы [190].

В последние годы в исследованиях появились данные о наличии взаимосвязи между патофизиологией АФС и нетозом [191]. Активный нетоз выявили при вторичном АФС на фоне неаутоиммунных и аутоиммунных заболеваний [192]. Патогенетические механизмы этой взаимосвязи, в том числе и у онкологических пациентов, требуют дальнейшего изучения.

1.7 Гипергомоцистеинемия у онкогинекологических пациенток

Под гипергомоцистеинемией понимают повышение концентрации в плазме крови гомоцистеина выше 5–15 $\mu\text{моль/л}$. Патогенетическая связь гипергомоцистеинемии и таких заболеваний, как болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона, деменция, сердечно-сосудистые заболевания [193, 194], сахарный диабет и мегалобластная анемия роль уже доказана [195, 196].

Гомоцистеин представляет собой серосодержащую аминокислоту, которая входит в состав фолатного цикла [197], участвуя в обмене цистеина и метионина. В обмене гомоцистеина участвуют два пути: путь транссульфирования и путь реметилирования [198]. При нарастании концентрации клеточного метионина, в реакциях транссульфатирования гомоцистеин под действием фермента CBS и кофактора пиридоксаль-5'-фосфат переходит в цистатионин [199]. Гомоцистеин при низкой концентрации клеточного метионина переходит в метионин с помощью бетаин- или фолатзависимых реакций с участием фермента бетаин-гомоцистеин-S-метилтрансфераза (BHMT) [196, 200]. BHMT катализирует реакции перехода метильной группы из бетаина в гомоцистеин. Гомоцистеин в фолат-зависимом пути метильную группу получает из N-5-метилтетрагидрофолата в реакциях с участием витамина B12 как кофактора и фермента 5-метилтетрагидрофолат-гомоцистеинметилтрансферазы (метионинсинтазы, MTR) [176]. Метионинсинтаза

связывает каскад реакций обмена гомоцистеина и фолиевой кислоты. Реакции синтеза тетрагидрофолата из N-5-метилтетрагидрофолата, в том числе при синтезе нуклеотидов, катализирует метионин синтаза [201]. От присутствия экзогенных фолатов зависит синтез тетрагидрофолата. При дефиците фолиевой кислоты нарушается реметилирование, что приводит к развитию гипергомоцистеинемии (Рисунок 1.7) [176].

У онкологических пациентов с тромботическими осложнениями отмечено повышение концентрации гомоцистеина в плазме крови. Частота встречаемости полиморфизмов генов ферментов обмена метионина и гомоцистеина, путей реметилирования и транссульфирования, при некоторых опухолях повышена [202]. Кроме того, гомоцистеин был предложен в качестве одного из биомаркеров роста опухоли [203]. Известно, что существует тесная связь между гомоцистеин-индуцированным ВТЭ и раком [176]. У онкологических пациентов на поздних стадиях заболевания развиваются как гипергомоцистеинемия, так и тромботические осложнения [204]. 13% от общего пациентов с ВТЭ составляют пациенты после химиотерапии, и у них отмечены повышенные концентрации гомоцистеина в плазме крови [205].

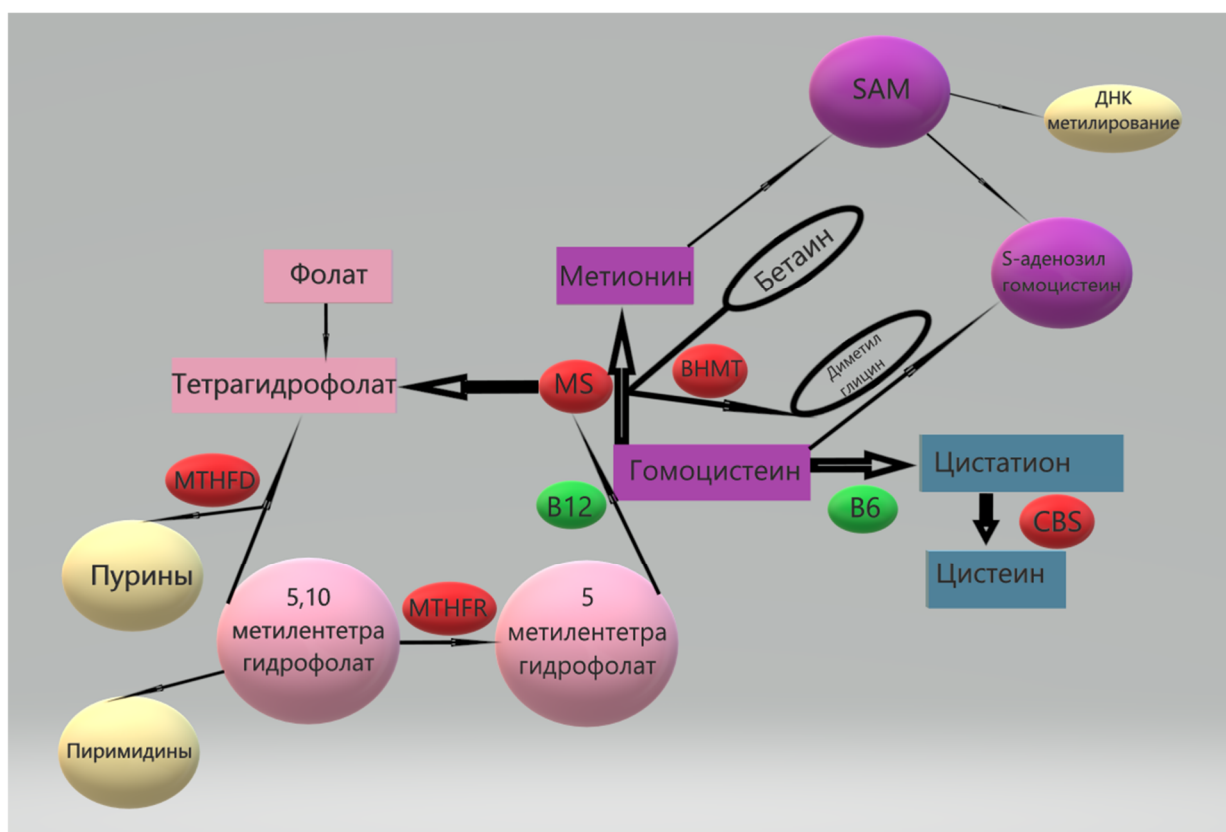


Рисунок 1.7 – Пути обмена гомоцистеина (SAM-S-аденозил-L-метионин, MTHFR-метилтетрагидрофолатредуктаза, MTHFD-метилтетрагидрофолатдегидрогеназа, MS-метионинсинтаза, BHMT-бетаин-гомоцистеин-S-метилтрансфераза) [176]

Многокомпонентный механизм лежит в основе рак-ассоциированного тромбоза на фоне гипергомоцистеинемии. Главным звеном которого является образование под действием гомоцистеина (Hcy) свободных радикалов и нарушение функции эндотелия [206]. Являясь прооксидантом, гомоцистеин участвует в синтезе свободных радикалов формируя димеры Hcy-Hcy и комплексы Hcy-белок. Активное производное гомоцистеина - гомоцистеин тиолактон, формирует ковалентные связи с остатками в белках лизина и аргинина, приводя к формированию нерастворимых белковых агрегатов (амилоидов) [207]. Способствует дальнейшему повреждению эндотелия S-гомоцистеинилирование или N-гомоцистеинилирование, которое меняет конфигурацию белковых факторов свертывания крови и препятствует обмену оксида азота (NO) [176, 208].

Гомоцистеин нарушает работу тромбомодулина, протеин C-зависимую инактивацию фактора Va, [209], повышает агрегацию тромбоцитов [176, 210],

снижает выделение оксида азота и противотромботическую активность клеток эндотелия.

С остатками лизина в белках гомоцистеин формирует аминные связи, повреждает белки через тиоловые радикалы, меняет структуру и функцию этих белков. При гипергомоцистеинемии свободные тиоловые группы запускают окислительный стресса, активируют тромбоциты, способствуя развитию тромбоза и дисфункции эндотелия [176, 211].

Дефицит фолиевой кислоты приводит к развитию гипергомоцистеинемии за счет нарушения в путях обмена метионина [212]. Фолиевая кислота необходима и для перехода дезоксиуридина монофосфата (ДУМФ) в тимидинмонофосфат [213]. В норме фермент тимидилат синтетаза превращает ДУМФ в тимидинмонофосфат, используя при этом в качестве источника метильной группы 5,10-метилентетрагидрофолат. На фоне нехватки фолиевой кислоты развиваются дисбаланс концентрации дезоксирибонуклеотидов, накопление ДУМФ и включение урацила вместо тимина в ДНК в большом количестве. Вышеуказанные нарушения призван устранять фермент урацил ДНК-гликозилаза путем выведения урацила из цепи ДНК [214]. При гипергомоцистеинемии на фоне снижения концентрации фолиевой кислоты ДНК-гликозилаза не в состоянии осуществить полноценную репарацию ДНК, а нарушение репарации ДНК есть путь к развитию хромосомных повреждений и злокачественной трансформации клеток [176, 215].

Нормальное функционирование генома невозможно без полноценного метилирования ДНК. Одновременно с метилированием ДНК под влиянием фермента метионин синтазы гомоцистеин превращается в метионин. В метилировании ДНК участвуют одновременно три типа ДНК-метилтрансфераз (DNMT) участвуют: DNMT3a, DNMT3b и DNMT1. Донором метильной группы в этих реакциях выступает S-аденозил-1-метионин (SAM). Он образуется из метионина в результате АТФ-зависимой реакции, катализируемой S-аденометилсинтетазой [216]. На фоне дефицита фолиевой кислоты развивается нехватка субстрата для метионинсинтазы, в связи с чем интенсивность метилирования ДНК снижается, происходят активация элементов

ретротранспозона и деконденсация гетерохроматина [217]. Глобальное геномное гипометилирование выявлено при таких опухолях как гепатоцеллюлярная карцинома и рак предстательной железы. Точечное гипометилирование выявляют уже на ранних стадиях опухолевого роста [176, 218].

Для синтеза пуринов *de novo* опухолевые клетки используют фолиевую кислоту, концентрация которой на этом фоне в плазме крови снижается [219]. Химиотерапия приводит к резкому росту концентрации гомоцистеина у онкологических пациентов. К антифолатам относят гормоны и их антагонисты, метотрексат и антиметаболиты [220]. Применение антифолатов приводит дополнительному снижению в плазме крови концентрации фолиевой кислоты [176].

Таким образом, повышенная концентрация общего гомоцистеина в плазме крови, как результат дефицита фолиевой кислоты, витамина В12 или витамина В6, генетических полиморфизмов и других причин – хорошо известный фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний. Гипергомоцистеинемия играет огромную роль в канцерогенезе с точки зрения синтеза ДНК, репарации и метилирования, а также в развитии рак-ассоциированного тромбоза. Тем не менее подробные механизмы влияния гомоцистеина на тромбообразование и опухолевый рост остаются загадкой.

1.8 Химиотерапия, тромбовоспаление и тромбогенез у онкогинекологических пациенток

Химиотерапия увеличивает риск ТГВ в шесть раз и рецидивирующего ТГВ в два раза [221]. К протромботическим механизмам химиотерапии относят активацию тромбоцитов [222], активация прокоагулянтных свойств тканевого фактора, рост концентрации микрочастиц и фосфатидилсерина [223] и рост концентрации внеклеточной ДНК [224, 225].

Роль химиотерапии в развитии тромбозов давно доказана, однако, механизмы тромбоза на фоне химиотерапии остаются не до конца изученными.

Химиотерапевтические агенты также вызывают эндотелиопатию. Вслед за активацией эндотелия сосудов в плазме крови растет концентрация селектинов, молекул адгезии и фактора фон Виллебранда [226]. Химиотерапия токсична для эндотелия, она снижает его чувствительность к простаглицлину, повышает агрегацию тромбоцитов и активирует коагуляционный каскад [227]. Химиотерапия способствует развитию гипофибринолиза и подавлению работы естественных антикоагулянтов. Изучение механизмов патогенеза тромбоза на фоне химиотерапии затрудняют использование в составе полихимиотерапии различных препаратов и схем лечения, а также недооценка исходного состояния системы гемостаза с точки зрения других факторов риска тромбоза, в том числе наличия врожденной приобретенной тромбофилии [227].

Химиотерапия активирует внутриклеточные сигнальные пути - источники медиаторов воспаления [228]. На фоне химиотерапии происходит прямое повреждение эндотелия с дальнейшей его активацией, что является ведущей причиной тромбоза [226, 227, 229]. Воспаление запускает различные изменения в тромбоцитах, лейкоцитах и клетках эндотелия, что способствует дальнейшему развитию тромбоза [230]. Под контролем интегринов, селектинов и других молекул адгезии происходит миграция лейкоцитов, их фиксация к поврежденным участкам эндотелия. Одним их самых изученных селектинов, сопутствующих тромбозу, является Р-селектин [231]. На поверхности лейкоцитов у Р-селектина есть свой рецептор - Р-селектин гликопротеиновый лиганд 1 (PSGL-1). Взаимодействуя с ним Р-селектин увеличивает выделение лейкоцитами прокоагулянтных веществ. Р-селектин также способствует привлечению макрофагов и нейтрофилов и стимулирует моноциты к экспрессии тканевого фактора [110, 227].

Химиотерапия запускает формирование иммунных комплексов, которые повреждают эндотелий сосудов, проявляя таким образом свою токсичность и повышая риск тромбоза за счет влияния на концентрацию и активность ADAMTS13 и VWF. На фоне химиотерапии одной из причин развития ТМА является накопительное действие препаратов. Пациенты на фоне ремиссии по

основному заболеванию могут умирать от ТМА через несколько месяцев от начала терапии [232]. Летальность при этом может достигать 72% [232].

Использование тирозинкиназ (ТКИ) и ингибиторов СЭФР способствует появлению аГУС подобных симптомов [233]. ТКИ повреждают подоциты, что характерно для очагового гломерулосклероза или нефропатии [234]. При микроскопии при этом не всегда удается обнаружить фрагментированные эритроциты, тромбоцитарные или фибриновые тромбы. Редко можно выявить иммунные комплексы [235]. В снижении сосудистого тонуса активное участие принимает СЭФР, активируя выработку простагландина и оксида азота клетками эндотелия, в чем заключается основная его физиологическая роль. Химиотерапия блокирует СЭФР, на фоне чего происходит сосудистый спазм, системная гипертензия и, как следствие, ТМА [236]. В микроциркуляторном русле угнетение СЭФР влечет за собой повреждение здорового фенестрированного эндотелия. Это приводит в гломерулах почек к нарушению клубочковой фильтрации, гипертензии и почечной недостаточности [237]. Прекращение использования химиотерапевтического агента или плазмозамещение при ТМА не эффективны [238]. Свою эффективность в данной ситуации продемонстрировали ингибиторы комплемента, учитывая их патогенетическую роль в развитии состояния [239]. Митомицин С у некоторых пациентов приводит к развитию ТМА, на фоне признаков активации эндотелия, роста в плазме крови концентраций ингибитора активатора плазминогена 1 (РАI-1) и тканевого активатора плазминогена (tРА), повышения концентрации тромбомодулина [240]. При использовании митомицина С описаны случаи ТМА в виде острого некардиогенного отека легких и синдрома дыхательной недостаточности [241]. Патогенез отека легких может быть связан с прямым токсическим воздействием препарата на эндотелий микрососудов легких [242].

Гемцитабин у онкологических пациентов может приводить к развитию гемцитабин-ассоциированной тромботической микроангиопатии с преимущественным манифестированием в виде почечной недостаточности [138], протеинурией, микрогематурией и системными гипертензиями [243]. В

гистологических препаратах отмечают наличие утолщения стенок капилляров, некроз клеток эндотелия, отложения компонента комплемента С3 и фибриновые сгустки крови. Ингибиторы комплемента продемонстрировали свою эффективность в отношении купирования гемцитабин-индуцированной ТМА [244].

В резистентности к противоопухолевой терапии играет центральную роль микроокружение опухоли, одним из основных игроков которого являются опухоль-ассоциированные нейтрофилы (ОАН) [110, 225, 245]. Они являются источниками хемокинов и цитокинов. Те, в свою очередь, обеспечивают выживание клеток опухоли, снижая ответ на противоопухолевую терапию [246]. При легкой нейтропении в исследованиях продемонстрировано улучшение терапевтического ответа и прогноза выживаемости на фоне химиотерапии [247]. Независимо от других факторов, подавление ОАН улучшает ответ на химиотерапию. Связь между нейтропенией и улучшением прогноза выживаемости ранее рассматривалась как совпадение. Однако, в настоящее время считается, что нейтропения демонстрирует ОАН-зависимые механизмы резистентности и является маркером эффективности терапии [248]. Нетоз вызывает интерес как механизм, в процессе которого формируется резистентность к терапии [225, 249].

Свободная циркулирующая ДНК вызывает интерес с точки зрения оценки интенсивности процессов метастазирования, опухолевой нагрузки и скрининга рака. Количественную оценку используют для мониторинга ответа на противоопухолевую терапию [250]. Концентрация ДНК при раке легкого в плазме крови повышена по сравнению со здоровыми людьми, при этом, она еще больше повышена после проведения курсов химиотерапии [251]. Исследования показали, что у онкологических больных химиотерапия увеличивает количество свободной циркулирующей ДНК, способствуя тромбозу [108, 225].

Исследований, посвященных взаимосвязи между противоопухолевой терапией и циркуляцией NETs в настоящее время не так много. Некоторые из них определили зависимость между резистентностью к химиотерапии и концентрацией внеклеточной ДНК (вкДНК). Источником вкДНК при этом могут быть

нейтрофилы. Концентрация вкДНК ранее предлагалась как прогностический маркер риска прогрессии рака и достаточности терапевтического эффекта [252]. В одном из исследований изучалась концентрация гистонов и циркулирующей ДНК и возможность использования этих показателей в роли биомаркеров ответа у пациентов на химиотерапию с немелкоклеточным раком легкого III или IV стадии [253]. В исследовании было показано, что более низкие концентрации гистонов и циркулирующей свободной ДНК коррелировали с хорошим терапевтическим ответом [225, 253].

Большинство исследований были сосредоточены до сих пор на опухоли как доминирующем источнике вкДНК. Однако, не так давно, было выдвинуто предположение, что нейтрофилы также вносят свой вклад циркуляцию внеклеточной ДНК [252]. Как показали исследования, вкДНК по своим характеристикам сходна с NETs при раке [254]. Это означает, что, повышенная концентрация вкДНК, наблюдаемая у пациентов с резистентностью к терапии, возможно, может быть частично связана с нетозом [225].

Наряду с гормональной и химиотерапией, иммунотерапия также у онкологических больных продемонстрировала свои протромбогенные эффекты. Талидомид и леналидомид в сочетании с дексаметазоном приводят к выраженному увеличению тромботического риска у онкологических больных. До конца не ясен их механизм тромбогенного действия. Возможными патогенетическими механизмами их влияния являются эндотелиотоксичность, дисрегуляция активатора тромбоцитов катепсина G и приобретенная резистентность к протеину C [225, 232].

1.9 Современная стратегия тромбопрофилактики и терапии тромбозов в онкогинекологии. Антикоагулянтные и неантикоагулянтные свойства гепаринов

В качестве антикоагулянтов активно использоваться в медицине гепарины стали после публикаций Каккаг и соавт. в 1970 году [255]. Авторы впервые

доказали, что гепарин препятствует развитию венозного тромбоза в послеоперационном периоде и снижает летальность от ТЭЛА. Фраксипарин (Sanofi, France) стал первым низкомолекулярным гепарином, с успехом, использованным с целью профилактики тромбозов в клинической практике. Были продемонстрированы и неантикоагулянтные фармакодинамические свойства гепаринов, которые во многом объясняющие при ряде заболеваний и состояний их клиническую эффективность (Таблица 1.3) [255].

Таблица 1.3 – Гепарин, его производные и их мишени [255, 257]

Название группы	Представители группы
Цитотоксические медиаторы	ЕСР, ЕМВР
Система комплемента	Фактор Н
Серпины	Фактор IXa, Комплекс АТ/фактор IIa, АТIII, Комплекс АТ/фактор Ха
Факторы роста	FGF-1, PDGF-AA, FGF-2, VEGF, FGF-4, FGF-7, FGF-8b, FGFR
Ферменты	Эластаза нейтрофилов, Триптаза, Бактериальная гепариназа 1
Цитокины	IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-7, IL-10, IL-12
Вирусные белки	FMDV capsid, HIV-1 gp120, vMIP-II, HPV18 capsid, gD glycoprotein of HSV
Хемокины	RANTES (CCL), Gro-a (CXCL1), IL-8 (CXCL8), MIP-1 α (CCL3), MIP-1 β (CCL4), CCR2 лиганды: MCP-1 (CCL2), MCP-2 (CCL8), MCP-3 (CCL7), MCP-4 (CCL13)
Сериновые протеазы	Тромбин
Молекулы адгезии	Интегрины, Р- и L-селектины
Белки эндотелия	Тромбоспондин, Фибронектин

Глизаминогликаны (ГАГ), в частности гепарин, хондроитин сульфат, гепарансульфат, представляют собой состоящие из повторов дисахаридных последовательностей полисахариды. В составе ГАГ из сульфатированных участков синтезируются функционально активные отрицательно заряженные группы [255, 256].

В клетках млекопитающих синтез гепарина начинается с последовательного переноса на серглицин протеогликан моносахаридов с формированием ядерного тетрасахарида, который далее связывается с атомом кислорода боковой цепи серина с формированием О-связанного гликана. Для синтеза гепаросана, предшественника гепарина, основой является тетрасахарид, синтез которого

осуществляется путем ферментативного переноса звеньев дисахаридов. Дальнейший посттрансляционный процессинг приводит к формированию зрелой молекулы полианионного протеогликана гепарина. С протеогликанами гепарина в гранулах тучных клеток связываются положительно заряженные факторы роста, протеазы и цитокины, секретируемые тучными клетками. Протеогликан гепарансульфата (ПГС) входят в состав внеклеточного матрикса (ВКМ). Путем воздействия глюкуронидазы или гидролиза возможно получить неоднородную смесь от 5 до 25 kDa молекул гепарина. Одна из трех выделенных молекул гепарина может связаться с антитромбином III (АТIII) [258]. Нефракционированный гепарин (НФГ), в котором содержится смесь молекул гепарина различного молекулярного веса, синтезируют путем экстракции из животных тканей (слизистой свиньи). С АТIII связываются менее 5% ПГС эндотелия [258]. Присутствие ПГС в гликокаликсе оправдано вкладом ПГС в антикоагуляционный потенциал сосудистого русла. Дали толчок для разработки биоинженерного гепарина высокий спрос и низкая степень очистки биологического гепарина [255, 259].

Поиск новых гепаринов нацелен на снижение осложняющего их использование риска кровотечения. К настоящему моменту такие низкомолекулярные гепарины (НМГ) синтезированы путем фрагментации НФГ [260]. Их получают при деполимеризации НФГ ферментативным, физическим или химическим путями [261]. НМГ находят свое применение в клинической практике в зависимости от фармакокинетических свойств и активности в отношении фактора Ха. НМГ имеют ряд преимуществ перед НФГ, обладая меньшим количеством побочных реакций, большей биодоступностью и лучшим расчетом дозы. У НМГ почечный клиренс превалирует над клеточным, дольше период полужизни, слабее связь с белками, короче связывание с клетками эндотелия (в 2–4 раза дольше циркуляция в плазме крови) и меньшее сродство к фактору фон Виллебранда. Антикоагулянтный эффект НМГ более предсказуем по сравнению с НФГ. При введении НМГ 1–2 раза в сутки возможно поддерживать необходимый уровень антикоагуляции. Максимальный уровень анти-Ха активности достигается через 3–4 часа и сохраняется 12 часов и более (Таблица 1.4) [255].

Таблица 1.4 – Эффекты НМГ [255]

Мишени	Биологический эффект	Клинический эффект
Белки	Предсказуемость антикоагуляции	Отсутствие необходимости мониторинга антикоагулянтного эффекта
Тромбоциты	Меньшая частота появления гепарин-индуцированных антител	Реже развитие гепарин-индуцированной тромбоцитопении
Тромбин	Снижение соотношения анти- IIa /анти- Xa	Не определен
Макрофаги	Почечный клиренс	Удлинение времени полужизни, введение 1 раз в сутки
Остеобласты	Меньшая частота активации остеокластов	Реже развитие остеопороза

НМГ представляют собой препараты выбора при венозном тромбоемболизме, остром коронарном синдроме и обширных оперативных вмешательствах [262]. НФГ незаменим при лечении пациентов с почечной недостаточностью и в устройствах экстракорпорального кровообращения, так он менее зависим от почечного клиренса, и его действие обратимо с помощью протамин сульфата [263]. Для лечения венозного тромбоза, а также для профилактики при оперативных вмешательствах и у пациентов с инфарктом миокарда используют фондапаринукс, антикоагулянт с высоким аффинитетом к антитромбину [264]. Деацетилированные, десульфатированные и другие модифицированные гепарины в настоящее время уже синтезированы как альтернативные средства, не обладающие антикоагулянтными свойствами [255, 265].

Антикоагулянтный эффект гепарины осуществляют за счет взаимодействия с фактором Xa (FXa), ингибитором сериновых протеиназ антитромбином (AT) и тромбином. Взаимодействуя с AT , гепарин подавляет работу каликреина и факторов XIa , IXa , VIIa . Гепарин связывается в участке «пентасахаридная последовательность» с AT и облегчает взаимодействие AT с FXa или тромбином. AT , после связывания с гепарином, сам меняет конформацию и повышает сродство к FXa в 100 раз и к тромбину в 2 раза [266]. Активность активированного протеина

C (APC – activated protein C) регулируется ингибитором протеина C (PCI – protein C inhibitor) [267]. Протеин C является антикоагулянтом, инактивирует FVIIIa и FVa в присутствии кофактора протеина S, активируясь под действием тромбина. Связываясь с гепарином в присутствии кальция, PCI усиливает свое влияние на FXa и APC. Антикоагулянтные эффекты гепарина обусловлены и его неантикоагулянтными свойствами, такими как способность модифицировать фибринолиз, активировать цитокины и хемокины, факторы роста, усиливать выделение ингибитора пути тканевого фактора (TFPI) [255]. НМГ значительно повышает концентрацию TFPI, естественного ингибитора внешнего пути свертывания, в плазме крови. TFPI подавляет формирование протеаз, снижает обусловленную тканевым фактором активацию макрофагов и тромбоцитов, модулирует эндогенные гликозаминогликаны, оказывает влияние на липопротеины низкой плотности и на эндотелий сосудов, нейтрализует эндогенный тканевой фактор, эластазы и фактора Ха [255].

Антикоагулянтному действию гепарина способствуют:

- потенцирование вследствие подавления калликреина и фактора XIIa действия C1-эстеразного ингибитора [255, 257];
- подавление ингибитора гепараназы [268];
- активация PZ ингибитора, подавление протеина Z;
- потенцирование противотромботических свойств кофактора гепарина II.

К неантикоагулянтным свойствам гепарина относятся: гепарин-ассоциированный выброс ингибитора пути тканевого фактора, связанный с эндотелием [269, 270], влияние на активаторы фибриногена, такие как плазминоген и тканевой активатор, и на молекулярную адгезию [271], связывание с цитокинами и хемокинами, нейтрализация DAMPS (damage-associated molecular patterns – связанных с повреждением молекулярных частиц) [272, 273].

Гепарин обладает и прокоагулянтными и антифибринолитическими свойствами. Он активирует свертываемость через Ха-фактор, облегчает подавление ингибиторами активированного протеина C, нарушает инактивацию фактора Va, способствуя развитию гипофибринолиза [274]. Ряд свойств гепарина

имеют место на фоне коагулопатии потребления и развиваются в отсутствие АТ III. В ряде случаев применение гепарина может приводить к снижению концентрации АТ [255].

«Неактивный» гепарин, который не взаимодействует с АТ [275] и обладает в отношении тканей защитными свойствами составляет около 70% нефракционированного гепарина. В 1980-е годы описана способность гепаринов связываться во внеклеточном матриксе на базальной мембране и на поверхности клеток с тромбоцитарным фактором роста (ТФР), с гликозаминогликанами (ГАГ), сосудисто-эпителиальным фактором роста (СЭФР) и фактором роста фибробластов (ФРФ) [276]. Факторы роста после связывания оказываются защищенными от денатурации и протеолиза. При повреждении цепей гликозаминогликанов высвобождаются факторы роста, которые взаимодействуют с клеточными рецепторами. Гепарин может взаимодействовать и с рецепторами и с самими факторами роста. Благодаря своей полисахаридной последовательности он выступает в роли корцепторной молекулы и формирует высокоаффинные комплексы факторов роста. Для формирования активного СЭФР содержащего комплекса необходим гепарин с длиной цепи из более, чем 22 сахаридных последовательностей. Гепарин с количеством последовательностей 18 способствует подавлению связывания СЭФР с его рецептором. НМГ представляет собой активный ингибитор как фиброза, так и ангиогенеза [277]. В настоящее время активно изучаются возможности применения в наномедицине и регенеративной медицине высокоаффинных комплексов гепарина с факторами роста [255, 278].

У онкогинекологических пациентов, получающих гепарин или его производные, лучшие выживаемость [279]. За антиметастатическое действие гепарина отвечает выделение ингибитора пути тканевого фактора клетками. TFPI *in vivo* и *in vitro* обладает антиангиогенным и антиметастатическим действием. Влияя на опосредованную активацией рецепторов активацию факторов роста ядерного фактора-карра В (NF-κB), гепарин подавляет активность и экспрессию тканевого фактора [280]. Снижение количества фибрина, окружающего опухолевые клетки - еще один антиметастатический механизм действия гепарина,

который обеспечивает доступ к опухолевым клеткам иммунной системы [281]. Препядствуя связыванию P- и L-селектина с лигандами опухолевой и здоровой клеток, гепарин меняет активность селектинов. Гепарин способен оказывать влияние на межклеточные взаимодействия и процессы, следующие за связыванием селектинов с мишенями. Он нарушает дифференцировку клеток [282]. Гепарин подавляет миграцию клеток *in vitro*, на уровне рецепторов CXCR4 и его лиганда CXCL12 нарушая рецепторные взаимодействия хемокин-хемокин [283]. Гепарин снижает адгезию клеток меланомы и метастазирование опухоли подавляя взаимодействия между интегрином VLA-4 и лигандом VCFM-1 [284]. CXCR1/2 и CXCL8 также относятся к мишеням гепарина [285]. Фермент гепараназа - эндогликозидаза, которая разрушает гепарансульфат на поверхности клеток и во внеклеточном матриксе. Гепарин, подавляя активность гепараназы снижает метастазирование и инвазию опухоли. Десульфатированные типы гепаринов не обладают подобными свойствами [286]. Противоопухолевое действие гепарина реализуется путем снижения интенсивности подавления опухолевых генов супрессоров и повышения чувствительности клеток к химиотерапевтическим препаратам [287]. Гепарин подавляет экспрессию β -галактозид связывающего белка и галектина-3, экспрессируемых в большом количестве при опухолевом росте [288]. Возможным механизмом антиметастатического действия гепаринов является способность связываться с кофактором гепарина II, концентрация которого повышена при наличии метастазов в плазме крови [255, 289].

Помимо антитромботической профилактики, существуют и другие показания для использования гепарина при раке. Продемонстрирован рост выживаемости среди принимающих НМГ и НФГ онкологических пациентов без сопутствующих тромбозов и рисков кровотечений в 3 фазе рандомизированного исследования при немелкоклеточном раке легкого и в метаанализе среди пациентов с мелкоклеточным раком легкого [290, 291]. Как показало мультицентровое исследование с участием у более 2000 пациентов с раком легкого, с другой стороны, профилактическое использование НМГ, при достоверном росте частоты кровотечений, не привело к увеличению выживаемости и снижению

метастазирования [292]. В ряде других исследований гепарин повышал выживаемость у пациентов с благоприятным прогнозом [293-295]. Исследования, проводимые с использованием наиболее употребляемых зарегистрированных гепаринов, не выявили взаимосвязи антиметастатического и антикоагулянтного эффектов. У неантикоагулянтных гепаринов также были протестированы антиметастатические эффекты, при этом в отсутствие влияния на коагуляционный каскад была выявлена их противоопухолевая эффективность [296]. Использование больших доз неантикоагулянтных гепаринов клинической практике оправдано отсутствием риска развития массивных кровотечений [255].

Противовоспалительный эффект гепаринов связан с их взаимодействиями с растворимыми лигандами плазмы, с молекулами и рецепторами на поверхности клеток. Гепарин подавляет повреждение тканей и нарастание воспалительного каскада путем связывания с провоспалительными ферментами и медиаторами, влияет на все этапы экстравазации и миграции лейкоцитов и подавляет активацию воспалительных клеток. Белки комплемента, связываясь с гепарином меняют свои функциональные свойства [297]. Гепарин предотвращает терминальный лизис клетки связываясь и подавляя формирование факторов комплемента (активного С1 комплекса и С3 конвертазы), а также мембран атакующего комплекса, влияет и на классический, и на альтернативный пути [255, 298].

Гепарин связывает хемокины и цитокины [299]. Связывание цитокинов в участке воспаления с гепаринами тучных клеток и с ГАГ приводит к росту концентрации их в этой зоне и защите от протеолиза и быстрого выведения из циркуляции. Экзогенно введенный гепарин конкурентно связывает хемокины и цитокины и удаляет их из очага воспаления [300]. Цитотоксичность внеклеточных гистонов гепарин также может нейтрализовывать [273, 301]. Он снижает концентрацию эластазы и катепсина G [302], тем самым предотвращая тромбоз [37, 255].

Гепарин снижает интенсивность воспаления и сохраняет целостность эндотелиального барьера путем активации в клетках эндотелия NK-kB и p38 MAPK [303]. Результатом связывания экзогенного гепарина с NK-kB является снижение

дегрануляции тучных и других иммунных клеток, лизосомальная ферментная активация, а также выделение реактивных форм кислорода. [255, 304].

Путем влияния на мишени тромбина, такие как активированный рецептор протеазы – 1 (protease activated receptor-1 PAR-1), гепарин способствует подавлению активации тромбина антитромбином. Гепарин одновременно с антикоагуляцией подавляет и воспалительный ответ, так как PAR рецепторы участвуют в процессах воспаления. Гепарин обладает антиатерогенным эффектом за счет уменьшения захвата сосудистой стенкой липопротеинов, снижения активности липопротеин липазы и улучшения липидного профиля [305, 306]. Гепарин подавляет пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов [307], что эффективно используется в покрытиях для стентов, регулирующих рост неоинтимы [255, 308].

Гепарин-зависимое связывание с молекулами клеточной адгезии и гепарин-зависимое нарушение экспрессии молекул адгезии обуславливает влияние гепарина на межклеточное взаимодействие. Гепарин снижает интенсивность воспалительной реакции путем своего взаимодействия с Р-селектином на поверхности активированных тромбоцитов и активированных клеток эндотелия и нарушая взаимодействия между тромбоцитами, эндотелием и лейкоцитами. Через L-селектин гепарин связывается с лейкоцитами. На поверхности активированного эндотелия гепарансульфат является важным участником адгезии и проникновения лейкоцитов через эндотелий. Вводимый экзогенно гепарин препятствует проникновению через эндотелий лейкоцитов [255, 309].

На поверхности лейкоцитов и активированных клеток эндотелия присутствует внутриклеточная молекула адгезии-1 (Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), молекула адгезии семейства протеинов иммуноглобулинов, связывающихся с интегринами CD11b/CD18 или CD11a/CD18. Большое значение она играет для сохранения барьерной функции эндотелия и миграции лейкоцитов. Работу молекулы в процессе активации эндотелия инактивирует гепарин после связывания с ICAM-1 [310, 311]. Тромбоцит-эндотелиальная молекула клеточной адгезии (Platelet endothelial cell adhesion molecule (PECAM-1)), которая

экспрессируется на поверхности иммунных клеток и тромбоцитов и принимает участие в перемещении иммунных клеток, связывается с гепарином в условиях развития ацидоза [312]. Также связываются с гепарином нейрональная молекула адгезии neuronal cell adhesion molecule (NCAM) и интегрин-макрофаг 1 антиген (integrin macrophage-1 antigen (Mac-1)) [313, 314]. Mac-1 присутствует на поверхности макрофагов, нейтрофилов и клеток естественных киллеров. Она состоит из CD11b и CD18 субъединиц, связывает белки комплемента C4b и iC3b, а также некоторые поверхностные бактериальные эпитопы. Связываясь с Mac-1, гепарин подавляет его взаимодействие с лигандами, что приводит к уменьшению выраженности воспаления и снижению клеточной пролиферации [255].

Противовирусное действие гепарина обусловлено формированием конкурентной связи гепарансульфата с вирусом на поверхности клетки [315]. Действуя через PAR-1 зависимый механизм, гепарин и НМГ снижают активацию тромбоцитов и влияют на сигнальные пути клетки. В отличие от гепаринов, пероральный антикоагулянт дабигатран повышает реактивность тромбоцитов, влияя на экспрессию тромбоцитарных PAR-1/PAR4 [255, 316].

Гепарин положительно влияет на эндотелий, восстанавливая работу гликокаликса после его повреждения в процессе воспаления [317]. Гепарин восполняет поверхностную клеточную сеть протеогликанов, привлекая внутриклеточный пул синдекана-1 и частично принимая на себя функции синдекана-1 [255, 318].

Одним из наиболее неблагоприятных побочных эффектов гепарина остается повышенная кровоточивость. У гепаринов данный эффект кратковременен за счет короткого периода полураспада в плазме крови по сравнению с кровоточивостью у антагонистов витамина К. Развившееся кровотечение можно купировать в экстренных случаях введением протамина сульфата. Протамин сульфат связывает отрицательно заряженный гепарин. Сформированный комплекс выводится далее из организма ретикулоэндотелиальной системой [255].

Гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ) является другим неблагоприятным побочным эффектом гепарина. Она развивается при

использовании терапевтических доз гепарина по статистике у 0,1% – 5% пациентов [319]. На фоне нефракционированного гепарина частота возникновения ГИТ выше. Существует два типа ГИТ. Первый тип ГИТ развивается в результате использования высоких доз гепарина впервые. Гепарин связывается с PF4 тромбоцитов, далее формируются крупные тромбоцитарные конгломераты, происходит активация тромбоцитов и сопутствующее снижение их количества в плазме крови и развивается неиммунная тромбоцитопения. Второй тип ГИТ развивается отсрочено, примерно через 5–10 дней от введения гепарина. Причиной развития второго типа ГИТ с тромбозами и тромбоцитопенией является формирование антител к комплексам гепарин-тромбоцит [320]. Длительное использование гепарина способствует развитию и других осложнений, таких как остеопороз [321] и заболевания кожи [255, 322].

Ряд преимуществ перед нефракционированным гепарином имеет НМГ. Основной антикоагулянтный эффект НФГ основан на связывании с АТШ и гепарин кофактором II и усилении их способности инактивировать тромбин. В меньшей степени НФГ способен связываться с факторами IXa и Xa. Фиксированные на поверхности фосфолипидов стенки сосуда Xa фактор и тромбин НФГ не может инактивировать. НФГ способен образовывать комплексы с фибронектином, витронектином, фибриногеном и белками эндотелия, такими как высокомолекулярная единица VWF, и тромбоцитов, например, низкомолекулярная субъединица VWF. Связывание гепарина с VWF может способствовать развитию несвязанного с тромботической тромбоцитопенией кровотечения. За счет взаимодействий и формирования комплексов с различными белками, а также возможности быстрого выведения из циркуляции благодаря длине цепей, нефракционированный гепарин имеет низкую биодоступность. Его использование необходимо сопровождать довольно частым мониторингом дозы, используя показатель активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ). НФГ всасывается из подкожного депо.

НМГ, в отличие от НФГ, лишены риска развития остеопороза при длительном использовании, гепарин индуцированных некрозов кожи, повышения

в плазме крови печеночных ферментов, гипоальдостеронизма, «рикошетных» тромбозов, кровотечения, тромбоцитопении вследствие внутрисосудистой агрегации тромбоцитов[255].

Средняя молекулярная масса НМГ составляет 4000–5000 Да. При взаимодействии с АТШ НМГ обладает слабой активностью в отношении тромбина и выраженной активностью отношении фактора Ха. НМГ обладают устойчивостью в отношении фактора 4 тромбоцитов. Они в меньшей степени влияют на функцию тромбоцитов и сосудистую проницаемость. Молекулы гепарина, содержащие менее 18 сахаридов не способны катализировать процесс подавления тромбина и не способны связываться одновременно с тромбином и с АТШ. Слабой связью НМГ с клетками эндотелия и макрофагами объясняется большой период полувыведения и пролонгированное действие НМГ. При подкожном введении НМГ имеют биодоступность более 90%. С влиянием на эндотелий связано 70% противотромботической активности НМГ. Способствуя высвобождению из эндотелия ингибитора тканевого пути свертывания, НМГ воздействует на внешний путь свертывания крови. НМГ активирует фибринолиз путем высвобождения из эндотелия тканевого активатора плазминогена. За счет подавления прокоагулянтной активности лейкоцитов НМГ действует в течение длительного времени, после того как анти Ха активность уже не обнаруживается. Без риска рикошетного тромбоза НМГ в дозе в 3 раза меньше, чем гепарин, можно вводить один раз в сутки. НМГ воздействуя на эндотелий (снижение VWF) и за счет анти Па эффекта снижают агрегацию тромбоцитов [323] (Рисунок 1.8).

Ведение онкологических пациентов с ВТЭ осложняется пациент-ассоциированными и опухоль-ассоциированными факторами:

- Тенденция к развитию гепаринорезистентности.
- Тромбоцитопения (на фоне химиотерапии, других видов терапии, поражения костного мозга, почечной или печеночной недостаточности, ДВС-синдрома).
- Частые инвазивные вмешательства.
- Риск падений, переломов и кровотечений из-за слабости, остеопении и дегенеративных изменений костной ткани.

- Высокий риск кровотечений (в том числе из опухоли).
- Взаимодействия антикоагулянтов с препаратами для химиотерапии и антибиотиками.
- Первичной или вторичное поражение центральной нервной системы.
- Высокий риск неудач варфаринотерапии.
- Трудности мониторинга проводимой терапии.
- Постоянно присутствующая гиперкоагуляция.
- Плохое питание и усвоение пищи [255].



Рисунок 1.8 – Множественные эффекты гепарина [255]

Антикоагулянты являются основным методом терапии ВТЭ (Таблица 1.5). Выделяют терапию острой фазы (первые 5–10 дней) и поддерживающую терапию. В терапии острой фазы предпочтение отдается НМГ для пациентов без почечной недостаточности. CLOT-исследование выявило преимущества терапии НМГ перед

терапией антагонистами витамина К. При этом разницы в риске кровотечений выявлено не было [324]. Альтернативой НМГ или нефракционированному гепарину в терапии острой фазы ВТЭ может быть непрямым ингибитор Ха-фактора фондапаринукс.

Таблица 1.5 – Принципы терапии онкогинекологических пациенток с ВТЭ [255]

Терапия острых состояний	<ul style="list-style-type: none"> – Нефракционированный гепарин: 80 ЕД/кг внутривенно болюсно с последующим введением 18 ЕД/кг/час под контролем АЧТВ – Дальтепарин, 200 ЕД/кг подкожно каждые 24 часа – Эноксапарин, 1 мг/кг подкожно каждые 12 часов – Тинзапарин, 175 ЕД/кг подкожно каждые 24 часа – Фондапаринукс, 5–10 мг подкожно каждые 24 часа (5 мг для веса до 50 кг, 7,5 мг для веса от 50 до 100 кг, 10 мг для веса более 100 кг) – Начальная доза Ривароксабана 15 мг дважды в сутки, через 3 недели повышается до 20 мг в сутки – Эдоксабан 60 мг в сутки после 5 дней парентерального введения антикоагулянта – Апиксабан 10 мг 2 раза в сутки 7 дней, далее 5 мг 2 раза в сутки – Дабигатран 150 мг 2 раза в сутки 7 дней после 5 дней парентерального введения антикоагулянта
Поддерживающая терапия	<ul style="list-style-type: none"> – Дальтепарин, 200 ЕД/кг подкожно каждые 24 часа, далее 150 ЕД/кг подкожно каждые 24 часа – Эноксапарин, 1 мг/кг каждые 12 часов или 1,5 мг/кг подкожно каждые 24 часа – Тинзапарин, 175 ЕД/кг подкожно каждые 24 часа – Антагонисты витамина К (например, варфарин) с подобранной дозой по МНО (международное нормализованное отношение) в интервале от 2-3 – Ривароксабан 20 мг в сутки, возможно снижение дозы до 10 мг в сутки – Эдоксабан 60 мг в сутки после 5 дней парентерального введения антикоагулянта – Апиксабан 10 мг дважды в сутки 7 дней, далее 5 мг 2 раза в сутки – Дабигатран 130 мг 2 раза в сутки после 5 дней парентерального введения антикоагулянта

Исследование Matisse с участием пациентов, принимающих на фоне ВТЭ фондапаринукс или эноксапарин в первые 5 дней лечения с последующим использованием антагонистов витамина К, показали, что в группе фондапаринукса частота повторных тромбозов была значительно выше [325]. Кохрановский обзор,

обобщивший 16 рандомизированных контролируемых исследований эффективности и безопасности НМГ, фондапаринукса и нефракционированного гепарина в острую фазу ВТЭ у онкологических больных, показал значительное снижение смертности при использовании НМГ по сравнению с нефракционированным гепарином, при этом без значимой разницы в снижении частоты повторных тромбозов. Различий в смертности и снижении частоты повторных тромбозов при сравнении нефракционированного гепарина и фондапаринукса выявлено не было [326].

Современные рекомендации ASCO предлагают НМГ для начальной терапии ВТЭ и поддерживающей в течение как минимум 6 мес. [327]. Рекомендации NCCN и ESMO предлагают в качестве терапии первой линии НМГ, однако для острой фазы не исключают также использование фондапаринукса или нефракционированного гепарина [328, 329]. У пациентов с тяжелой почечной недостаточностью ESMO рекомендует использовать НФГ или НМГ с мониторингом анти-ха активности в острую фазу [328].

Среди НМГ FDA одобрил использование дальтепарина 200 Ед/кг подкожно каждые 24 часа в качестве монотерапии для ежедневного использования у пациентов с рак-ассоциированным ВТЭ. Эноксапарин и тинзапарин, однако, используются в повседневной практике. Для пациентов с повышенным риском тромбоза эноксапарин имеет преимущества в связи с более коротким периодом полувыведения. Также для госпитализированных пациентов имеет преимущество использование НФГ в связи с его коротким периодом полувыведения и обратимости его эффектов на фоне введения протамина.

Данные по эффективности и безопасности тромболизиса у онкологических пациентов немногочисленны. В этой группе в связи с высоким риском кровотечений он не часто применяется и проводится только по жизненным показаниям. Согласно рекомендациям АССР, тромболизис не проводится у гемодинамически стабильных пациентов, он возможен у пациентов с сердечно-легочной недостаточностью, тяжелой дисфункцией правого желудочка на фоне ТЭЛА, флотирующим тромбом в правом предсердии или желудочке, большим

размером сгустка [244, 328]. Дополнительными показаниями к тромболизису, по рекомендациям NCCN и ESMO, являются угрожающие потере конечности или жизни острые проксимальные тромбозы глубоких вен или массивный илеофemorальный тромбоз [328, 329]. До проведения тромболизиса следует сканировать головной мозг с целью исключения объемного образования или исходного кровоизлияния, которые являются абсолютными противопоказаниями. К другим противопоказаниям относятся геморрагический инсульт, заболевания печени, рефрактерная к терапии гипертоническая болезнь, ишемический инсульт в течение последних 3 недель, активное кровотечение или повышенная кровоточивость, обширная травма в анамнезе, концентрация тромбоцитов менее $100,000/\text{м}^3$, состоявшееся желудочно-кишечное кровотечение и травма головы или оперативное вмешательство в течение 3 недель [329]. Регионарная тромболитическая терапия при острой ТЭЛА допустима для гемодинамически скомпрометированных пациентов или пациентов с выраженной желудочковой дисфункцией, у которых системный тромболизис не дал результатов, или как альтернатива системному тромболизису [330].

Исследование с участием 2747 онкологических пациентов с установкой фильтра в нижнюю полую вену показало, что он не снижает ни 30-дневную смертность, ни риск повторных ТЭЛА, однако повышает риск повторных тромбозов глубоких вен [331]. Согласно рекомендациям NCCN, ASCO, ACCP, ESMO, несмотря на адекватную антикоагуляцию или для предотвращения развития ТЭЛА, использование сава-фильтров возможно при повторных ТЭЛА при наличии противопоказаний к антикоагулянтной терапии (не поддающиеся терапии метастазы в мозг, угрожающие жизни кровотечения).

Прямые оральные антикоагулянты, непосредственно подавляющие работу Ха и Па факторов, в настоящий момент все еще проходят клинические испытания на предмет своей безопасности и эффективности у онкологических больных. Исследования, проведенные среди неонкологических пациентов с тромбозом глубоких вен, показали, что их эффективность сравнима с НМГ [332]. В исследовании Einstein изучалась эффективность и безопасность использования

ривароксабана у онкологических пациентов с ТЭЛА и ТГВ. В исследовании лишь 5,6% пациентов имели активный рак [333]. В исследовании Amplify проводилось сравнение апиксабана с эноксапарином и варфарином в терапии острого тромбоза, однако также лишь 3,1% пациентов имело активный рак и 6,8% онкогинекологические заболевания в анамнезе [334]. По данным обоих исследований нет достоверной разницы в частоте повторных тромбозов между группами пациентов, использующих оральные антикоагулянты и группы НМГ с последующим варфарином. В исследованиях препаратов дабигатрана и эдоксабана принимало участие небольшое количество онкологических больных [335], как и во многих других исследованиях, которые не удовлетворяют критериям ни по численности онкологических пациентов, ни по дизайну исследования. В связи с этим ASCO, NCCN и ESMO не рекомендуют использование оральных антикоагулянтов у онкологических пациентов с ВТЭ. Опасения заключаются в возможном нарушении фармакокинетики и фармакодинамики препаратов в связи со взаимодействием лекарственных средств, нарушении абсорбции в кишечнике, нестабильной функции почек и др.

1.10 Аспирин, тромбовоспаление и рак

Аспирин – самый широко используемый противовоспалительный препарат и антиагрегант, на который в разные периоды времени большие надежды возлагали исследователи в области онкологии [336].

Аспирин синтезирован в 1897 году и с тех пор активно используется как нестероидное противовоспалительное средство для уменьшения боли, лихорадки, воспаления, а также как антиагрегант. Все больше данных в литературе говорят об его эффективности и в профилактике онкологических заболеваний, снижении метастазирования и улучшении выживаемости, особенно при колоректальном раке [337, 338]. Разные исследователи рекомендуют использование аспирина как профилактическое средство для снижения тромботических осложнений у онкологических пациентов, а также с целью снижения заболеваемости не только

колоректальным раком, но и другими онкологическими заболеваниями, такими как холангиокарцинома, рак молочной железы, предстательной железы, легких, эндометрия, поджелудочной железы и яичников [339-341]. Однако полученные результаты исследований следует интерпретировать с осторожностью из-за гетерогенности исследуемых групп. Для подтверждения эффективности использования аспирина у онкологических пациентов и в качестве профилактики возникновения и прогрессии онкологических заболеваний необходимы крупные рандомизированные контролируемые исследования. Остается открытым и вопрос, какие именно патогенетические механизмы могут позволить аспирину реализовывать свою эффективность в онкологии.

Аспирин необратимо ингибирует циклооксигеназу (ЦОГ) путем ацетилирования остатка серина, снижая тем самым синтез простаноидов, таких как PGE₂ и TXA₂, из арахидоновой кислоты. ЦОГ-1 экспрессируется тромбоцитами и эпителием желудка и отвечает за синтез TXA₂ в тромбоцитах и базальную продукцию цитопротекторных простагландинов в слизистой оболочке желудка. ЦОГ-2 в норме не экспрессируется большинством клеток, за исключением некоторых тканей, таких как эндотелий. Однако сверхэкспрессия ЦОГ-2 определяется во многих опухолевых клетках, например, при колоректальном раке, раке молочной железы, желудка, легких и поджелудочной железы, а также меланоме. Критической точкой онкогенеза и метастазирования является повышение синтеза простагландина E₂ с помощью ЦОГ, что усиливает пролиферацию опухоли, ангиогенез, дифференцировку, воспаление и снижение иммунитета [342]. Способность аспирина подавлять активность ЦОГ и выработку простаноидов считается одним из основных механизмов его противоопухолевого действия.

Однако остается открытым вопрос, какая часть эффекта аспирина связана с его влиянием на тромбоциты, а какая на ЦОГ в опухолевых клетках. И как сказывается прием аспирина как противовоспалительного агента на интенсивности процессов некроза?

Было обнаружено, что прием аспирина коррелирует со снижением риска развития колоректального рака только у пациентов с повышенной экспрессией ЦОГ-2 [343]. Последующие исследования показали, что влияние аспирина на тромбоциты в дозах от 75 до 300 мг/день (т.е. постоянная инактивация ЦОГ-1 тромбоцитов) оказывает противоопухолевое действие, снижая заболеваемость, выраженность метастазирования и смертность при раке [344]. Напротив, эта доза аспирина не дает устойчивого подавления ЦОГ-2 в ядродержащих клетках, потому что ядродержащие клетки способны синтезировать *de novo* изоферменты ЦОГ в течение нескольких часов, тогда как тромбоциты нет. Для устойчивого ингибирования ЦОГ-2 необходимы более высокие дозы аспирина (например, 650 мг 3 раза/день) [345].

Аспирин ингибирует индуцированный тромбоцитами ангиогенез и другие проонкогенные тромбоцитопосредованные пути [346]. Также изучены ЦОГ-независимые механизмы действия аспирина при раке, включая модификацию NF- κ B и RUNX1, индукцию апоптоза опухолевых клеток, влияние на гиперметилирование генов-супрессоров опухолей, подавление мутаций, вызывающих повреждение ДНК и ацетилирование внутриклеточной РНК [347]. Однако большинство этих результатов были получены только в экспериментах *in vitro* с использованием сверхтерапевтических концентраций аспирина. Одним из возможных механизмов влияния аспирина на выраженность процессов тромбовоспаления при раке может быть именно влияние на тромбоциты и опосредованное снижение активации нетоза тромбоцитами в условиях опухолевого роста.

Тромбоксан A₂ является вазоконстриктором, который активирует новые тромбоциты, увеличивая агрегацию тромбоцитов, а также активацию нетоза посредством взаимодействия с нейтрофилами [348]. Активация тромбоцитов через TLR2 и TLR4 приводит к экспрессии P-селектина, вызывающего нетоз связываясь с рецептором нейтрофилов (PSGL-1) [349]. Связывание α M β 2 (MAC-1) на нейтрофилах с гликопротеином 1b α (GP1b α) на тромбоцитах также приводит к нетозу [350]. Тромбоциты после активации секретируют растворимые нетоз-

индуцирующие медиаторы, связанные с G-белком нейтрофилов [351]. Подавление взаимодействия тромбоцитов и нейтрофилов потенциально может снижать выраженность нетоза. В исследованиях на мышах прием аспирина приводил к снижению интенсивности формирования NETs [352]. В другом исследовании сравнивали влияние дексаметазона и аспирина на нетоз, и было показано, что дексаметазон не оказывает никакого эффекта, в то время как аспирин предотвращает образование NETs [353]. Исследователи продемонстрировали, что аспирин действует, подавляя NF-κB, воспалительный регулятор транскрипции, который способствует нетозу. Эти результаты показывают, что аспирин может быть возможным средством, влияющим на процессы тромбовоспаления при раке.

1.11 Выводы по главе 1

Вопрос тромбовоспаления и нарушений гемостаза у онкологических пациентов на фоне проведения терапии разрабатывается активно в течение последних лет. Общность патогенетических механизмов острого инфекционного процесса и опухолевого роста дала возможность продвинуться в понимании патогенеза прогрессии рака и его осложнений на фоне прошедшей пандемии COVID-19 [354]. У 20% всех пациентов с COVID-19 имели место грубые изменения лабораторных показателей гемостаза (повышение концентрации Д-димера и продуктов деградации фибриногена), при этом при тяжелой форме заболевания нарушения гемостаза имели место в 100% и выраженность их была прогностически значимой [92, 355-357].

Репликация вируса приводит к выделению клеткой провоспалительных агентов, оказывает цитотоксическое действие, а также способствует развитию каскада реакций в системе гемостаза, комплемента, иммунных реакций и активирует альвеолярные макрофаги [358, 359]. Сформированные иммунные комплексы сами активируют систему комплемента и способствуют нарастанию воспалительной реакции [360]. Повреждения эндотелия способствуют высвобождению огромных количеств фактора фон Виллебранда с последующем

истощением ADAMTS13 и драматическими изменениями в показателях оси ADADMTS13/VWF [357, 361, 362].

Как было показано, вырабатываемые в огромном количестве в условиях новой вирусной инфекции способствуют повреждению эндотелия, активации тромбоцитов, развитию альвеолита и другим процессам, активирующим гемостаз [186, 363]. Сети хроматина NETs разрушают альвеолярно-капиллярный барьер [364], а гистоны NETs запускают цитотоксические реакции усиливая внутриклеточный трансфер ионов кальция после взаимодействия с фосфолипидами мембран [355, 365]. Внеклеточные ловушки, как оказалось, явились каркасом для построения тромбов и адгезии тромбоцитов [366] (Рисунок 1.9).



Рисунок 1.9 – COVID-19 и тромбовоспаление [135]

Актуальность проблемы тромбовоспаления и нарушений гемостаза у онкологических пациентов на фоне проведения терапии связана с необходимостью усовершенствования принципов профилактики осложнений, прогнозирования течения заболевания. В этой связи крайне важно оценить взаимосвязь между такими процессами, как нетоз, нарушения функционирования оси ADAMTS13/VWF, цитокинами как участниками процессов тромбовоспаления, их

вклад не только в развитие тромботических осложнений, но и прогрессию опухоли и метастазирование, роль в этом уже известных критериальных форм наследственной и приобретенной тромбофилии, а также прогностическую эффективность оценки таких показателей, как Д-димер и выявление новых маркеров.

Разработка проблемы нетоза у онкологических пациентов ведется в течение последних лет. Было показано, что в опухолевой ткани нетоз активируют интерлейкин-8 эндотелия и гранулоцит стимулирующий фактор роста [108]. При совместной культивации с нейтрофилов и клеток эндотелия под влиянием ИЛ-8 формируются NETs [109]. Внеклеточные ловушки нейтрофилов являются строительным материалом для тромбов и активаторами агрегации тромбоцитов, приводя у онкологических больных к тромбообразованию [122]. NETs запускают выделение фактора Виллебранда, формирование эритроцитарных тромбов, активацию и агрегацию тромбоцитов, с последующим нарушением функционирования ADAMTS13/VWF оси. При этом активированные тромбоциты запускают нетоз, замыкая порочный круг.

NETs, помимо активации системы гемостаза, способствуют процессам метастазирования, захватывая из кровотока опухолевые клетки нитями ДНК при фиксации к эндотелию сосудов. В экспериментах предотвратить NETs опосредованное метастазирование удастся путем введения ингибиторов эластаз или ДНКаз [117].

Концентрация VWF у онкологических пациентов выше, концентрация ADAMTS13 ниже, что коррелирует со стадией заболевания. У онкологических пациентов выявлена взаимосвязь между активностью ADAMTS13, концентрацией VWF и тромботическим риском [143]. Помимо этого, в литературе имеются данные о том, что концентрация VWF значительно выше, а активность ADAMTS13 ниже у пациентов на фоне прогрессии опухоли [144]. Таким образом, прослеживается зависимость между степенью активации эндотелия и распространением опухолевой ткани [152].

Говоря о «критериальной» тромбофилии, следует отметить, что многочисленные исследования, оценивающие мутацию FV Leiden, мутацию протромбина G20210A (FII) и полиморфизмы генов ферментов участников обмена гомоцистеина, как факторы риска рака-ассоциированного тромбоза, показали противоречивые результаты. При этом полиморфизмы генов ферментов участников обмена гомоцистеина, как было показано, связаны и с появлением различных типов опухолей. Возможно, они вносят свой вклад в общую картину протромботического состояния, а также влияют на прогноз течения заболевания, что тоже требует изучения совместно с оценкой других факторов, в частности тромбовоспаления.

В многочисленных исследованиях показан рост концентрации антифосфолипидных антител у онкологических пациентов, а это означает, что антифосфолипидные антитела могут являться одним из звеньев патогенеза тромбоза. Кроме этого, пациенты с циркуляцией АФА имеют повышенный риск развития злокачественных новообразований [182]. Предполагается, что тромбоз на фоне циркуляции АФА связан с иммунным ответом на опухолевые антигены, иммунотерапию рака или системное воспаление при злокачественных новообразованиях [177]. В некоторых исследованиях выявлена взаимосвязь циркуляцией АФА с нетозом [191]. У пациентов с вторичным АФС при различных заболеваниях выявлен активный нетоз [192].

При тромбозах у онкологических пациентов отмечено повышение в плазме крови концентрации гомоцистеина. Гомоцистеин был предложен в качестве маркера роста опухоли [203]. Гипергомоцистеинемия играет огромную роль в канцерогенезе с точки зрения синтеза ДНК, репарации и метилирования, а также в развитии рак-ассоциированного тромбоза. Тем не менее подробные механизмы влияния гомоцистеина на тромбообразование и опухолевый рост остаются загадкой.

К патогенетическим механизмам протромбогенного действия препаратов для химиотерапии относят активацию тромбоцитов, повреждение эндотелия с последующими нарушениями функционирования оси ADAMTS13/VWF,

повышение прокоагулянтной активности тканевого фактора [222], повышение концентрации микрочастиц и фосфатидилсерина [223] и повышение концентрации внеклеточной ДНК [224, 225]. Концентрация молекул адгезии, селектинов и фактора фон Виллебранда растет в плазме крови после активации сосудистого эндотелия [226]. Химиотерапевтические препараты активируют факторы свертывания, стимулируют агрегацию тромбоцитов, за счет прямого токсического действия на эндотелий снижают чувствительность к простаглицлину. На фоне химиотерапии происходит подавление фибринолиза и звена естественных антикоагулянтов. Растворимые факторы, такие как хемокины и цитокины, выделяемые активированными нейтрофилами, подавляют ответ на терапию усиливая механизмы выживания опухолевых клеток [246]. У пациентов с легкой нейтропенией на фоне химиотерапии отмечается улучшение терапевтического ответа и прогноза [247]. Участие нейтрофилов в резистентности к лечению хорошо описано, что вызывает интерес к нетозу как его механизму [225]. Исследования, изучающие связь между циркулирующими NETs и противоопухолевой терапией, остаются скудными. Также недостаточно освещены вопросы влияния химиотерапии на активность нетоза у онкологических больных.

В целом, вопросы лабораторной диагностики активации гемостаза у онкологических пациентов, прогрессии опухоли и метастазирования у онкогинекологических пациенток, а также терапевтические подходы с учетом данных о тромбовоспалении и нарушениях гемостаза в онкогинекологии, остаются не до конца изученными и крайне актуальными в современной медицине.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Клиническая характеристика обследованных больных

С февраля 2019 по май 2023 гг. проводилось контролируемое нерандомизированное исследование, проспективная часть диссертационного исследования, с участием 262 пациенток со злокачественными новообразованиями органов женской репродуктивной системы и молочной железы. Ретроспективную часть исследования составил анализ архивного материала с октября 2016 по январь 2021. В нее вошли 207 пациенток с злокачественными новообразованиями органов женской репродуктивной системы и молочной железы.

Всего в диссертационное исследование включено 469 пациенток в возрасте от 30 до 72 лет, госпитализированных в стационар для планового оперативного лечения или проведения курса химиотерапии. Контрольную группу составили 50 здоровых женщин. Отбор пациенток проводился на базах ГБУЗ ГКОБ № 1 ДЗМ и УКБ 4 Сеченовского Университета.

2.1.1 Дизайн исследования

В проспективную группу исследования с 2019 по 2023 годы было включено 262 пациентки с новообразованиями органов женской репродуктивной системы и молочной железы согласно критериям включения и исключения (Рисунок 2.1). Все пациентки были ознакомлены с предстоящим исследованием и подписали информированное согласие об участии в исследовании. Забор крови пациенткам проспективной группы производился четыре раза, при поступлении до начала терапии, после операции через 14 дней или через 14 дней после окончания 2 курса химиотерапии, через 14 дней после 4 и 6 курсов химиотерапии. В обследование, помимо общеклинических исследований и оценки системы гемостаза, входило определение маркеров нетоза (антигена МРО, Cit-H3 гистон), маркеров активации системы гемостаза (Д-димер и ТАТ), концентрации интерлейкина-8, антител к

бета-2-гликопротеину 1, концентрации фактора Виллебранда, концентрации и активности ингибиторов ADAMTS13.

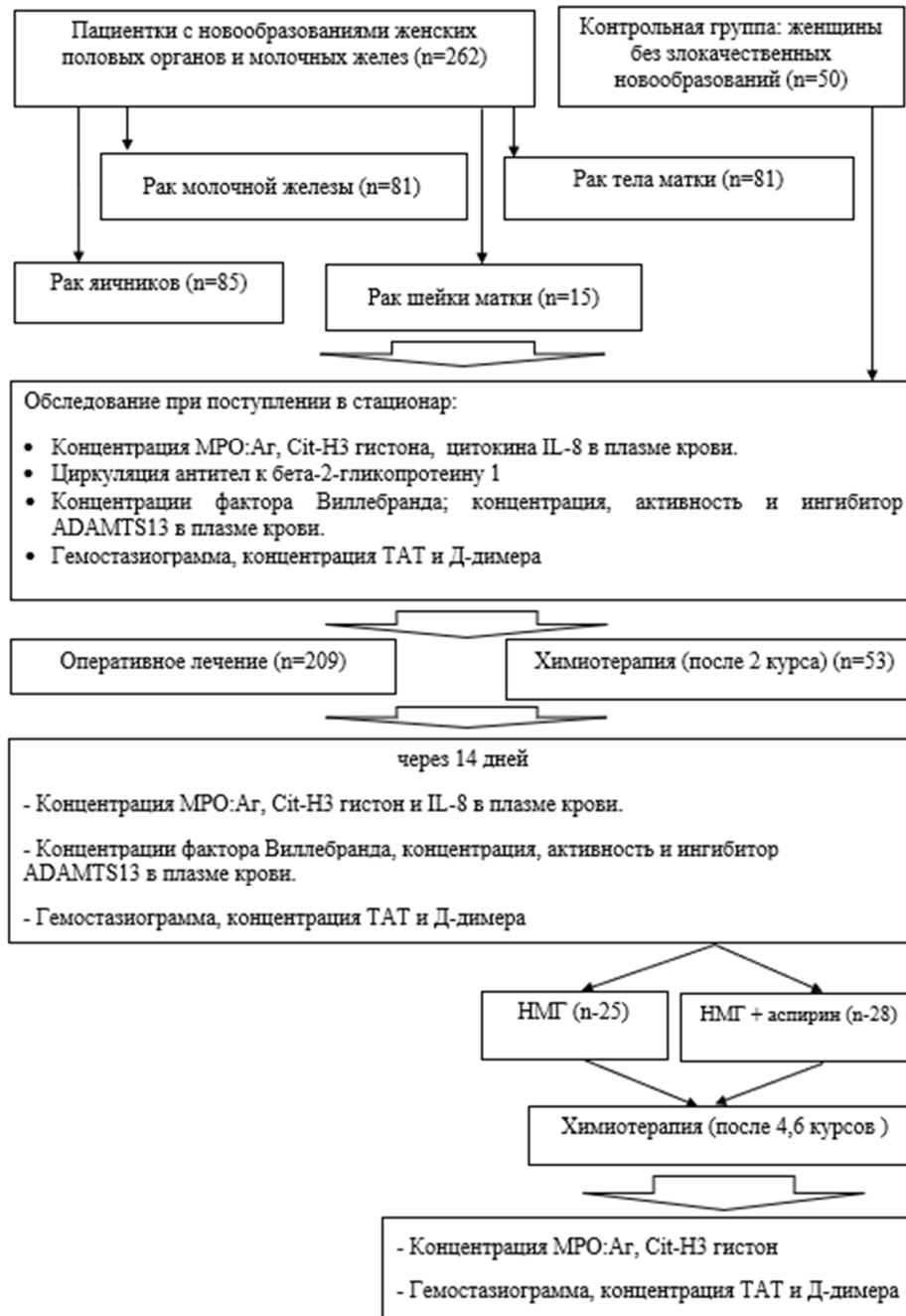


Рисунок 2.1 – Дизайн исследования в проспективной группе

В ретроспективной части исследования проведен анализ медицинской документации: историй болезни, амбулаторных карт и результатов исследований пациенток в период с 2016 по 2021 годы (Рисунок 2.2).

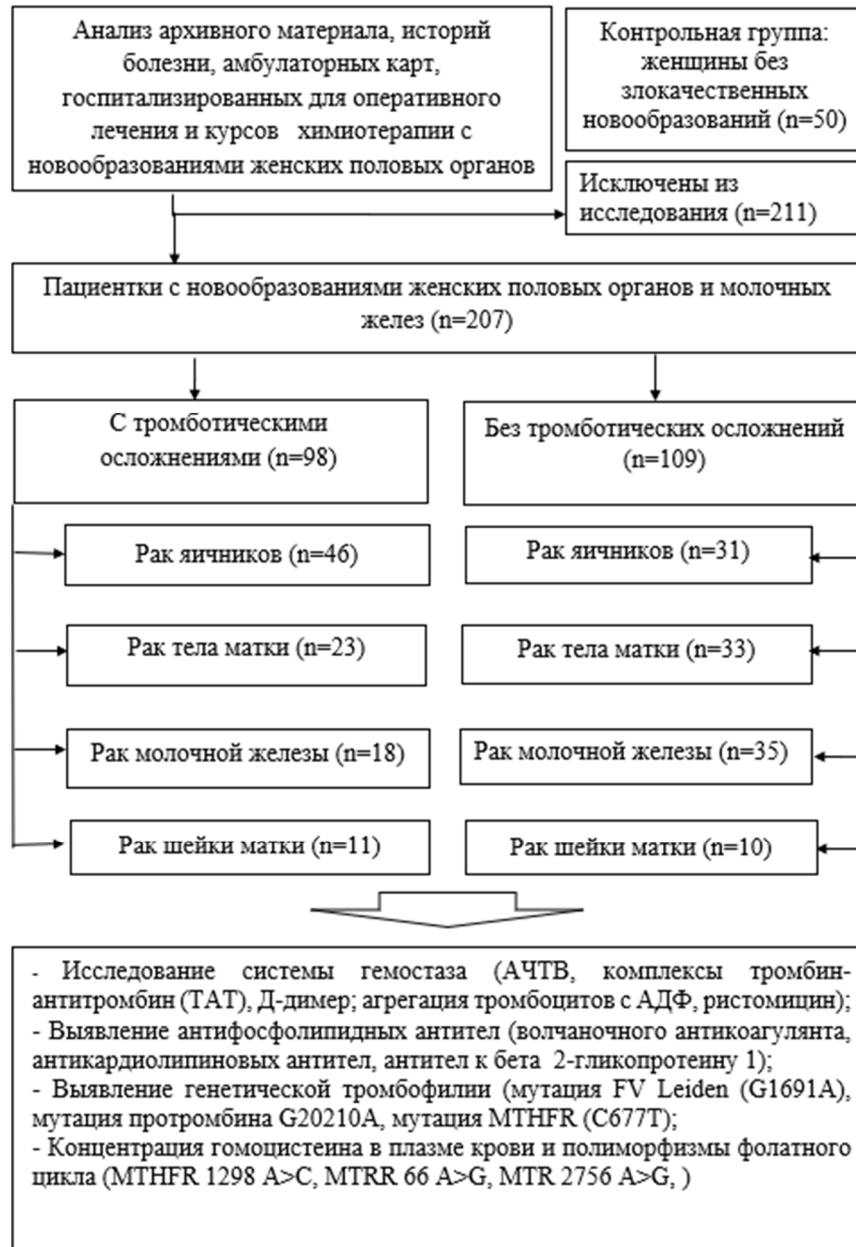


Рисунок 2.2 – Дизайн исследования в ретроспективной группе

Количество пациенток составило 418 человек, по которым была проведена систематизация данных из медицинских документов тех пациенток, которые были госпитализированы за указанный период с злокачественными новообразованиями женских половых органов и молочной железы для проведения курсов химиотерапии или оперативного лечения. Во время госпитализации до начала терапии у пациенток проводили отбор проб крови для оценки состояния системы гемостаза, определения циркуляции АФА, концентрации гомоцистеина

наследственной тромбофилии. Полученные данные внесены в общую научную базу данных кафедры. Ретроспективную группу составили пациентки, в медицинской документации которых (исследования из базы данных, истории болезни и амбулаторных карт) была отражена информация о здоровье в течение 1 года после выписки из стационара, в том числе и о возникновении тромботических осложнений. Отбор включенных в исследование пациенток был проведен на основании критериев включения и исключения, а также наличия информации о тромботических осложнениях в течение 1 года после выписки.

Исключено из исследования 211 пациентка. Критериями исключения стали: отсутствие данных всех изучаемых показателей в базе данных, данных о состоянии здоровья в течение 1 года после выписки из стационара, или несоответствие критериям включения и исключения. В ретроспективную группу в итоге вошло 207 пациенток.

Из 50 здоровых женщин сформирована контрольная группа 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 MPO, Cit-H3 гистон), маркеров активации системы гемостаза (Д-димер и ТАТ), концентрации интерлейкина-8, антифосфолипидных антител, концентрации фактора Виллебранда, концентрации и активности ADAMTS13.

2.1.2 Критерии включения и исключения

Критерии включения (онкогинекологические пациенты):

1. Диагноз при поступлении – аденокарцинома эндометрия, рак яичников, цервикального канала, молочных желез, подтвержденные данными лабораторного, инструментального и клинического обследования.

2. Подписанное информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

3. Возраст старше 18 лет.

Критерии включения (контрольная группа):

1. Подписанное информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

2. Отсутствие тромбозов и тромбоземболий, онкологических и воспалительных заболеваний.

3. Возраст старше 18 лет.

Критерии невключения:

1. Сахарный диабет в стадии декомпенсации.

2. Хронические заболевания печени и почек в стадии обострения.

3. Тромботический или геморрагический синдром на момент обследования.

4. Прием антикоагулянтов и антиагрегантов.

5. Сердечно-сосудистые заболевания, тяжелое течение.

6. Наличие активного инфекционного и/или воспалительного процесса.

7. Другие сопутствующие онкогинекологические заболевания, тромбоземболические осложнения, сопутствующие коагулопатии и тромбоцитопатии.

8. Возраст младше 18 лет.

Критерии исключения: отказ от продолжения участия в исследовании.

Этические аспекты

Данное исследование проведено с учетом требований Хельсинской декларации. Участницы проспективной и контрольной групп подписывали добровольное информированное согласие после получения исчерпывающей информации. Протокол заседания этического комитета №03-23 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) от 16.02.2023.

2.1.3 Группы обследованных пациенток

2.1.3.1 Проспективная группа пациенток

Проспективную группу составили пациентки со злокачественными заболеваниями молочных желез и женских половых органов на разных стадиях: рак молочной железы (n=81, из них на стадии 1 TNM – 43 пациентки, на стадии 2 TNM – 31 пациентка, на стадии 3 TNM – 7 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 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) (Таблица 2.1).

Таблица 2.1 – Клинико-anamнестическая характеристика проспективной группы пациенток (уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток и группы контроля)

	Онкогинекологические пациентки (n=262)								Контрольная группа (n=50)	
	РЯ		РТМ		РМЖ		РШМ			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
	85	32,4	81	30,9	81	30,9	15	5,7		
Возраст										
До 30 лет	-	-	-	-	1	1,2	1	6,7	6	12
30-45 лет	31	36,5	32	39,5	57	70,4	7	46,7	16	32
45-60 лет	41	48,2	37	45,7	19	23,5	5	33,3	18	36
Старше 65	13	15,3	12	14,8	4	4,9	2	13,3	10	20
ИМТ менее 25	55	64,7	5	6,2	8	9,9	8	53,3	28	56
ИМТ 25-40	27	31,8	37	45,7	39	48,1	6	40	18	36
ИМТ более 40	3	3,5	39	48,1	34	42,0	1	6,7	4	8
Гипертоническая болезнь	20	23,5	36	44,4	43	53,1	3	20	4	8
Сахарный диабет	17	20	27	33,3	22	27,2	1	6,7	7	14
Хронический гастрит	13	15,3	5	6,2	6	7,4	1	6,7	9	18
Гинекологические заболевания, акушерские осложнения										
Миома матки	53	62,4	50	61,7	56	69,1	10	66,7	21	42
АМК	30	35,3	70	86,4	42	51,9	5	33,3	11	22
Гиперпластические процессы эндометрия	42	49,4	67	82,7	35	43,2	7	46,7	7	14
Эндометриоз	38	44,7	36	44,4	29	35,8	8	53,3	15	30

Продолжение Таблицы 2.1

Невынашивание беременности	21	24,7	34	42,0	32	39,5	7	46,7	10	20
Преэклампсия	26	30,6	26	32,1	21	25,9	6	40	4	8
Методы лечения										
Оперативное лечение	53	62,4	78	96,3	68	83,9	10	66,7	-	-
ХТ неoadьювантная	13	15,3	-	-	5	6,2	5	33,3	-	-
ХТ адьювантная	19	22,3	3	3,7	8	9,9	-	-	-	-
Стадия 1 (TNM)	-	-	45	55,5	43	53,1	11	73,3	-	-
Стадия 2 (TNM)	37	43,5	28	34,6	31	38,3	4	26,7	-	-
Стадия 3 (TNM)	48	56,5	8	9,9	7	8,6	-	-	-	-

209 пациенток подверглись оперативному лечению (подгруппа «рак яичников» – n=53, подгруппа «рак тела матки» – n=78, подгруппа «рак молочной железы» – n=68, подгруппа «рак шейки матки» – n=10).

У 53 пациенток была проведена химиотерапия. У 30 пациенток проведена адьювантная химиотерапия, у 23 пациенток - неoadьювантная.

Всем онкогинекологическим пациенткам на фоне хирургического лечения проводилась профилактика тромботических осложнений с использованием низкомолекулярного гепарина в различных дозах в зависимости от выявленной степени риска тромботических осложнений и массы тела. 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.

Всем пациенткам проведено обследование: сбор жалоб, анамнеза жизни и анамнеза заболевания, осмотр, а также общеклинические и лабораторные исследования. На основании результатов комплексного обследования на догоспитальном этапе был установлен диагноз основного заболевания.

Особое внимание при сборе анамнеза обращалось на акушерский анамнез, наличие гинекологических заболеваний и возраст. 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 в подгруппах «рак тела матки» и «рак молочной железы».

Пациентки проспективной группы (n=53) после 2 курса химиотерапии были разделены на две подгруппы. В одной подгруппе был назначен НМГ, в другой – комбинация НМГ+аспирин с целью дальнейшего мониторинга концентрации маркеров нетоза и активации гемостаза. В первую группу (НМГ) вошли пациентки, имеющие установленный по данным гастроскопии или по данным анамнеза хронический гастрит (n=25), во вторую группу (НМГ+аспирин) – пациентки без хронического гастрита. По остальным показателям достоверных различий между группами не отмечалось ($>0,05$) (Таблица 2.2).

Таблица 2.2 – Клинико-анамнестическая характеристика подгрупп пациенток химиотерапии (уровень p рассчитан при сравнении групп пациенток, использующих НМГ и НМГ+аспирин)

	Пациентки на фоне химиотерапии (n=53)				p
	НМГ		НМГ+аспирин (325 мг)		
	n	%	n	%	
	25	47,2	28	52,8	
Рак тела матки	2	8	1	3,6	$>0,05$
Рак шейки матки	2	8	3	10,7	$>0,05$
Рак молочной железы	7	28	6	21,4	$>0,05$
Рак яичников	14	56	18	64,2	$>0,05$
30-45 лет	4	16	6	21,4	$>0,05$
45-60 лет	12	48	13	46,4	$>0,05$
Старше 65	9	36	9	32,1	$>0,05$
ИМТ менее 25	3	12	4	14,3	$>0,05$
ИМТ 25-40	11	44	11	39,3	$>0,05$
ИМТ более 40	11	44	13	46,4	$>0,05$
Гипертоническая болезнь	7	28	9	32,1	$>0,05$
Сахарный диабет	5	20	5	17,9	$>0,05$
Хронический гастрит	25	100	-	-	$<0,05$
ХТ неоадьювантная	11	44	12	42,9	$>0,05$
ХТ адьювантная	14	56	16	57,1	$>0,05$
Стадия 2 (TNM)	11	44	16	57,1	$>0,05$
Стадия 3 (TNM)	14	56	12	42,9	$>0,05$

2.1.3.2 Ретроспективная группа пациенток

Пациенткам ретроспективной группы диагноз основного заболевания устанавливался до планового поступления в стационар на основании результатов комплексного обследования. Далее в зависимости от выбранной тактики лечения они были госпитализированы в плановом порядке либо для проведения оперативного лечения, либо проведения курса химиотерапии. В анализ архивного материала вошли такие показатели, как возраст, гинекологические заболевания, акушерский анамнез, стадия заболевания, вид терапии, сопутствующие заболевания. По результатам анализа историй болезни, данных базы обследования и данных амбулаторных карт были выделены две группы пациенток с тромботическими осложнениями в течение года наблюдения после выписки из стационара (n=98) и без них (n=109). Сравнимые группы были сопоставимы по возрасту, структуре сопутствующих гинекологических и экстрагенитальных заболеваний, распределению источников опухоли и стадий, а также видов терапии (Таблица 2.3). Отсутствовали различия между группами 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 (Таблица 2.4).

Таблица 2.3 – Клинико-anamнестическая характеристика ретроспективной группы пациенток без тромботических осложнений, группы контроля (уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток и группы контроля)

	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		
Возраст ($p>0,001$)										
До 30 лет	1	3,2	-	-	3	8,6	1	10	6	12
30-45 лет	10	32,3	8	24,2	11	31,4	3	30	16	32
45-60 лет	11	35,5	13	39,4	12	34,3	4	40	18	36
Старше 65	9	29,0	12	36,4	9	25,7	2	20	10	20
Отягощенный наследственный тромботический анамнез ($p>0,001$)	9	29	11	33,3	10	28,6	2	20	14	28
Гинекологические заболевания ($p>0,001$ между группами онкологических пациенток и $p<0,001$ при сравнении с контрольной группой)										
Миома матки	19	61,3	21	63,6	25	71,4	7	70	21	42
АМК	11	35,5	29	87,9	19	54,3	4	40	11	22
Гиперпластические процессы эндометрия	16	51,6	28	84,8	16	45,7	3	30	7	14
Эндометриоз	15	48,4	14	42,4	12	34,2	5	50	15	30
Осложнения беременности										
Невынашивание беременности ($p<0,001$)	9	29,0	12	36,4	14	40,0	3	30	10	20
Преэклампсия ($p<0,001$)	10	32,3	11	33,3	10	2,9	2	20	4	8
Оперативное лечение ($p>0,001$)	17	54,8	32	97,0	30	85,7	8	80	-	-
Химиотерапия неоадьювантная ($p>0,001$)	6	19,4	-	-	2	5,7	2	20	-	-
Химиотерапия адьювантная ($p>0,001$)	8	25,8	1	3,0	3	8,6	-	-	-	-
Стадии (TNM) ($p>0,001$)										
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Метастазы отдаленные ($p>0,001$)										
Обнаружены	5	16,1	4	12,1	5	14,3	1	10	-	-
Не обнаружены	26	83,9	29	87,9	30	85,7	9	90	100	-
ИМТ ($p>0,001$)										
Менее 25	21	67,7	2	6,0	3	8,6	6	69	28	56
25-40	9	29,1	15	45,5	17	48,5	4	40	18	36
Более 40	1	3,2	16	48,5	15	42,9	-	-	4	8

Продолжение Таблицы 2.3

Гипертоническая болезнь (p>0,001)	12	38,7	16	48,5	18	51,4	3	30	4	8
Сахарный диабет (p>0,001)	6	19,4	12	33,4	9	25,7	-	-	7	14

Таблица 2.4 – Клинико-anamнестическая характеристика ретроспективной группы пациенток с тромботическими осложнениями, группы контроля (уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток и группы контроля)

	Пациентки с тромботическими осложнениями (n=98)								Контрольная группа (n=50)	
	РЯ		РТМ		РМЖ		РШМ			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Возраст (p>0,001)										
До 30 лет	2	4,4	-	-	-	-	-	-	6	12
30-45 лет	16	34,8	4	17,4	1	5,6	2	18,1	16	32
45-60 лет	15	32,6	9	39,1	9	50	5	45,5	18	36
Старше 65	13	28,2	10	43,5	8	44,4	4	36,4	10	20
Отягощенный наследственный тромботический анамнез (p>0,001)	15	32,6	7	30,4	4	22,2	3	27,2	14	28
Гинекологические заболевания (p>0,001 между группами онкологических пациенток и p<0,001 при сравнении с контрольной группой)										
Миома матки	27	58,7	14	60,9	12	66,7	7	63,6	21	42
Стадии (TNM) (p>0,001)										
1	-	-	12	52,2	9	50	7	63,6	-	-
2	22	47,8	8	34,7	8	44,4	4	36,4	-	-
3	24	52,2	3	13,1	1	5,6	-	-	-	-
Метастазы отдаленные (p>0,001)										
Обнаружены	8	17,4	3	13	4	22,2	2	18,2	-	-
Не обнаружены	38	82,6	20	87	14	77,8	9	81,8	50	100
ИМТ (p>0,001)										
Менее 25	32	69,6	1	4,3	2	11,2	7	63,6	28	56
25-40	11	23,9	12	52,2	8	44,4	3	27,3	18	36
Более 40	3	6,5	10	43,5	8	44,4	1	9,1	4	8
Гипертоническая болезнь (p>0,001)	17	37,0	13	56,5	11	61,1	2	18,2	4	8
Сахарный диабет (p>0,001)	8	17,4	8	34,8	5	27,8	1	9,1	7	14
АМК	15	32,6	20	87,0	9	50	4	36,4	11	22
Гиперпластические процессы эндометрия	23	50	19	82,6	7	38,9	3	27,3	7	14

Продолжение Таблицы 2.4

Эндометриоз	21	45,7	9	39,1	6	33,3	4	36,4	15	30
Осложнения беременности										
Невынашивание беременности (p<0,001)	22	47,8	12	52,2	8	44,4	5	45,5	10	20
Преэклампсия (p<0,001)	21	45,6	10	43,5	8	44,4	4	36,4	4	8
Оперативное лечение (p>0,001)	27	58,7	20	87,0	15	83,3	8	72,7	-	-
Химиотерапия неoadъювантная (p>0,001)	7	15,2	-	-	1	5,6	3	27,3	-	-
Химиотерапия адъювантная (p>0,001)	12	26,1	3	13,0	2	11,1	-	-	-	-

Сопоставимы по возрасту были пациентки двух подгрупп онкологической группы и женщины, вошедшие в контрольную группу. В структуре гинекологического анамнеза отмечена значительная доля пациенток с миомой матки, аномальными маточными кровотечениями, гиперпластическими процессами эндометрия и эндометриозом среди онкогинекологических пациенток. У пациенток контрольной группы гинекологический анамнез был реже осложнен.

У большего числа пациенток со злокачественными новообразованиями и тромбозами выявлен осложненный акушерский анамнез по сравнению с группой без тромбозов и контрольной группой. Так, 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 (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). При анализе структуры выявлено большое количество пациенток с ожирением, особенно среди пациенток с опухолями тела матки и молочной железы в обеих подгруппах. Для проведения оперативного лечения была госпитализирована большая часть пациенток в обеих подгруппах: 71,4% (70 пациентки из 98) в подгруппе с тромбозами и 79,8% (87 пациенток из 109) в подгруппе без тромбозов.

Остальные пациентки поступали для проведения адьювантной и неадьювантной химиотерапии.

2.2 Методы исследования

Забор крови в проспективной группе путем венепункции проводился до четырех раз. До начала проведения терапии при поступлении в стационар - первый раз, через 14 дней после операции или после 2 курса химиотерапии - второй раз, а также у пациенток на фоне использования НМГ или НМГ в комбинации с аспирином (325 мг) после 4 и 6 курсов химиотерапии (3 и 4 раз). Хранение плазмы после центрифугирования осуществлялось при температуре -80°C . Отбор проб крови производился из локтевой вены натощак в пластиковую пробирку с антикоагулянтом в соотношении 9:1 сухой стерильной иглой. Раствор 3,8% трехзамещенного цитрата натрия был использован в качестве антикоагулянта.

Отбор крови в ретроспективной группе пациенток проводился при поступлении пациенток в стационар однократно. Образцы плазмы и полученные данные составили базу данных для дальнейшего изучения.

2.2.1 Определение маркеров нетоза

Набор для иммуноферментного анализа (ИФА) Hycult Biotech (Нидерланды) был использован для определения концентрации в плазме крови антигена миелопероксидазы человека (МПО: Ag). Нормальным референтным значением показателя МПО: Ag, в соответствии с инструкцией к набору, является $2,56 \pm 0,33$ нг/мл.

С помощью набора для ИФА Citrullinated Histone H3 ELISA Kit (Cayman Chemical, Ann Arbor, США) было выполнено определение в плазме крови цитруллинированного гистона H3 (англ. citrullinated histone H3, citH3).

2.2.2 Определение маркеров активации гемостаза

На спектрофотометре Boehringer ELISA-Photometr (Boehringer, Германия) иммуноферментным способом с помощью набора Siemens Healthineers Enzygnost™ TAT MicroKit (Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Германия) проведено определение комплексов тромбин-антитромбин (TAT) - маркеров тромбинемии.

Оценка концентрации Д-димера проведена с помощью коммерческого иммуноанализа (TECHNOLEIA®, Австрия, реагент Technoclone). В соответствии с данными производителя патологическим считалось значение, превышающее 250 нг/мл.

2.2.3 Определение концентрации антигена фактора фон Виллебранда, концентрации и активности ADAMTS13

Концентрацию антигена и активности ADAMTS13 (ADAMTS13:Аг, ADAMTS13:Ак), ингибитора ADAMTS13 (ADAMTS13:Инг) и антигена фактора фон Виллебранда (VWF:Аг) определяли с использованием тестов TECHNOZYM® (компания Technoclone Herstellung von Diagnostika und Arzneimitteln GmbH, Вена, Австрия) в замороженных образцах плазмы с низким содержанием тромбоцитов. Нормальным референтным диапазоном для VWF:Аг, согласно данным производителя, считается диапазон 0,5–1,5 МЕ/мл, для VWF:Аг – 0,5–1,5 МЕ/мл (50–150%), для ADAMTS13:Ак – 0,4–1,3 МЕ/мл, антигена ADAMTS-13: 0,41–1,41 ЕД/мл и для ADAMTS13:i – менее 15 ЕД/мл.

2.2.4 Определение концентрации интерлейкина-8

Набор для иммуноферментного анализа (ИФА) IL-8, Human, pAb Antibody Hycult Biotech (Нидерланды) был использован для определения концентрации в плазме крови ИЛ-8.

2.2.5 Определение циркуляции антифосфолипидных антител

Концентрацию антикардиолипидных антител определяли (антител к бета-2-гликопротеину I суммарных (суммарные IgA, IgM, IgG)) с использованием диагностического набора ORGENTEC Anti- β 2-Glycoprotein I Screen («БиоХимМак», Россия) на спектрофотометре согласно Сиднейским критериям методом иммуноферментного анализа (ELISA).

2.2.6 Диагностика генетических форм тромбофилии

Из плазмы крови обследованных участниц была выделена ДНК, полиморфные локусы проамплифицированы методом полимеразной цепной реакции с последующим рестрикционным анализом с помощью специфических эндонуклеаз. Анализировали продукты амплификации и рестрикции с помощью электрофореза в 3-процентном агарозном геле, окрашивая бромистым этидием. Были изучены частоты следующих полиморфизмов фолатного цикла: вариант A66G гена MTRR (5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase reductase), вариант A2756G гена MTR (5-Methyltetrahydrofolate-Homocysteine Methyltransferase), аллельные варианты C677T и A1298C гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR). Проведена диагностика наличия мутаций протромбина G20210A и фактора V Leiden.

2.2.7 Оценка системы гемостаза

Определение протромбинового индекса (ПТИ) проведено с использованием коммерческих наборов Thromborel S, Siemens (Германия); определение концентрации фибриногена проведено с использованием наборов Multifibren U, Siemens (Германия); определение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) с использованием коммерческих наборов

Stago (Франция); измерение количества тромбоцитов в периферической крови на автоматическом счетчике Trombocounter (Франция), оценка тромбоцитарного звена гемостаза с помощью изучения агрегационной активности тромбоцитов на агрегометре Rayton (США), с графической регистрацией интенсивности и динамики агрегации тромбоцитов с помощью индуктора агрегации раствора аденозиндифосфата (АДФ).

2.2.8 Оценка концентрации гомоцистеина

Концентрация общего L-гомоцистеина в плазме крови определялась методом конкурентного иммуноферментного анализа помощью набора Axis® Homocysteine Enzyme Immunoassay. Нормальная концентрация гомоцистеина (у мужчин и женщин) в плазме крови составляет 5–15 $\mu\text{моль/л}$. 15–30 $\mu\text{моль/л}$ принято считать легкой степенью гипергомоцистеинемии, 31–100 $\mu\text{моль/л}$ - средней степенью, более 100 $\mu\text{моль/л}$ - тяжелой. Границей между группами в исследовании было выбрано среднее значение диапазона легкой степени гипергомоцистеинемии - показатель 22 $\mu\text{моль/л}$.

2.2.9 Статистическая обработка полученных данных

Статистическая обработка включала в себя расчет: среднеквадратического отклонения (SD), минимального и максимального значений лабораторных показателей, средней арифметической (M). При помощи теста Харке–Бера (Jarque–Bera test) проводилась оценка на нормальность распределения. Нулевая гипотеза H_0 о том, что остатки значений рассматриваемых показателей групп участников имеют нормальное распределение, на уровне значимости $p \leq 0,05$ во всех случаях отклонялась нами.

При помощи критерия Манна–Уитни для несвязанных выборок (Mann–Whitney U-test) были проведены сравнение значений показателей между группами и непараметрическая оценка пациенток. Нулевая гипотеза H_0 была

сформулирована как отсутствие различий между группами пациенток. H_0 отклонялась при уровнях значимости $p \leq 0,05$ во всех случаях.

Расчет ρ -коэффициента ранговой корреляции Спирмена (англ. Spearman Rank Order Correlations) с фиксацией уровня значимости коэффициента в корреляционной матрице на уровне значимости $p \leq 0,05$ проводился при изучении связей между переменными с точки зрения отражения формулируемых причинно-следственных между показателями отношений.

Для оценки связи между определенным исходом и фактором риска у онкологических пациенток с тромботическими осложнениями нами были рассчитаны CI (confidence interval) – доверительный интервал, OR (odds ratio) – отношение шансов, aOR (adjustment odds ratio) – скорректированное отношение шансов.

ГЛАВА 3. ТРОМБОВОСПАЛЕНИЕ У ОНКОГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОК (РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В ПРОСПЕКТИВНОЙ ГРУППЕ)

С целью оценки вклада тромбовоспаления в развитие онкотромбозов, а также прогрессии опухоли и метастазирования у онкогинекологических пациенток проведено исследование в проспективной группе из 262 пациенток с новообразованиями женских половых органов и молочных желез, госпитализированных для проведения терапии (химиотерапия или оперативное лечение): рак молочной железы (n=81, из них на стадии 1 TNM – 43 пациентки, на стадии 2 TNM – 31 пациентка, на стадии 3 TNM – 7 пациенток), рак шейки матки – аденокарцинома цервикального канала (n=15, на стадии 1 TNM – 11 пациенток, на стадии 2 TNM – 4 пациентки), рак яичников (n=85, из них на стадии 2 TNM – 37 пациенток, на стадии 3 TNM – 48 пациенток), 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). Оперативному лечению подверглись 209 пациенток, химиотерапия проведена у 53 пациенток: адьювантная – у 30 пациенток, неоадьювантная – у 23 пациенток. Контрольную группу составили 50 здоровых женщин без злокачественных заболеваний. Пациенткам проспективной группы забор крови производился до начала терапии и через 14 дней после операции или окончания 2 курса химиотерапии, далее в группе пациенток после химиотерапии через 2 недели после 4 и 6 курсов на фоне терапии НМГ или НМГ с аспирином. В обследование, помимо общеклинических исследований и оценки системы гемостаза, входило определение маркеров нетоза (концентрация антигена МРО (МРО-Аг), Cit-H3 гистона), маркеров активации системы гемостаза (Д-димера и комплексов ТАТ), концентрации интерлейкина-8, антифосфолипидных антител, концентрации фактора Виллебранда, концентрации, активности и ингибиторов ADAMTS13.

3.1 Определение циркуляции внеклеточных ловушек нейтрофилов как маркеров тромбовоспаления, прогрессии опухоли и метастазирования

Для оценки интенсивности нетоза у онкогинекологических пациенток были определены концентрации циркулирующих в плазме крови маркеров нетоза – антигена миелопероксидазы человека (МРО:Аг) и цитруллинированного гистона Н3 (CitH3). Были выявленные достоверные различия в концентрации маркеров нетоза между онкологическими пациентками и участницами контрольной группами (Таблица 3.1).

Таблица 3.1 – Данные 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	Онко пациентки n=262	РТМ n=81	РЯ n=85	РШМ n=15	РМЖ n=81	Контрольн. группа n=50
Д-димер, мкг/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, нг/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:Аг, 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
МПО:Аг, 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
ADAMTS13: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
Ингибитор ADAMTS13:Инг (n<15МЕ/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
ADAMTS13:Аг, 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 β 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%)

При оценке концентрации маркеров нетоза значительные различия между группами отмечались среди пациенток групп рак молочной железы и рак яичников ($p < 0,00001$), рак яичников и рак тела матки ($p = 0,0135$), а также рак молочной железы и рак тела матки ($p < 0,00001$). Максимальные значения маркеров нетоза имели пациентки групп рак тела и шейки матки (Рисунки 3.1–3.2).

Выявлены достоверные различия среди пациенток на стадии 1 TNM и на стадиях 2–3 TNM в концентрации citH3 гистона (Рисунок 3.3).

Не было выявлено достоверных различий среди пациенток с на стадии 1 и на стадиях 2–3 TNM в концентрации МПО:Аг.

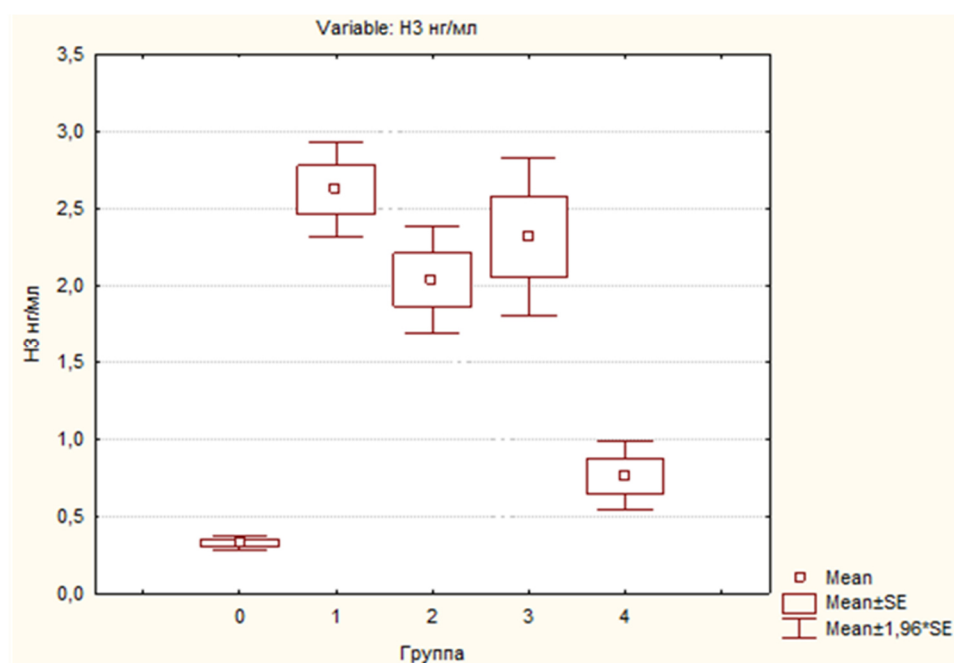


Рисунок 3.1 – Концентрация H3 гистона у пациенток контрольной группы (0 группа), из групп «рак тела матки» (1 группа), «рак яичников» (2 группа), «рак шейки матки» (3 группа), «рак молочной железы» (4 группа)

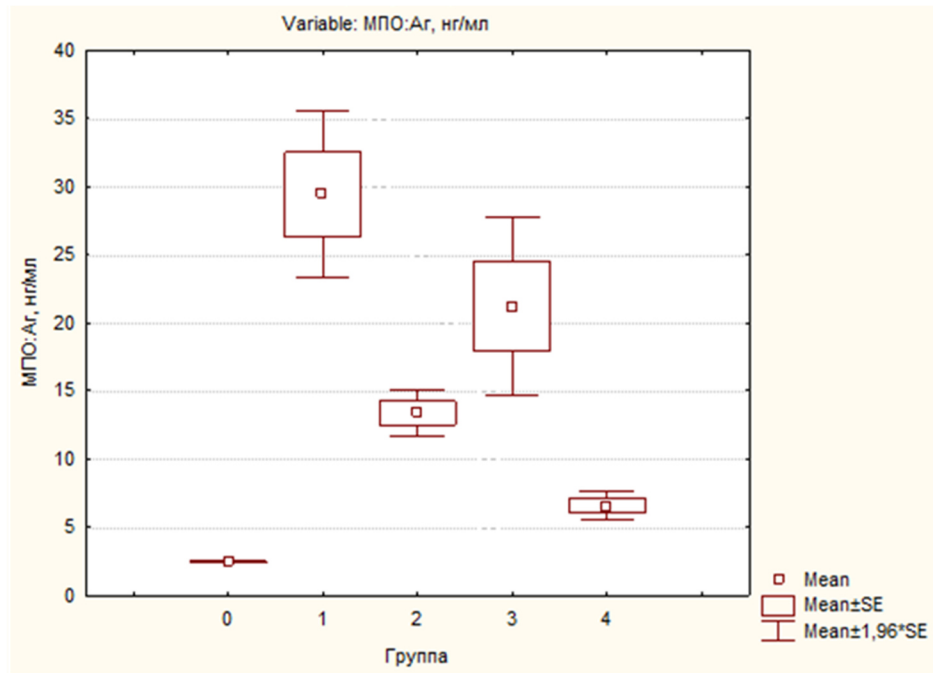


Рисунок 3.2 – Концентрация МПО:Аг у пациенток контрольной группы (0 группа), из групп «рак тела матки» (1 группа), «рак яичников» (2 группа), «рак шейки матки» (3 группа), «рак молочной железы» (4 группа)

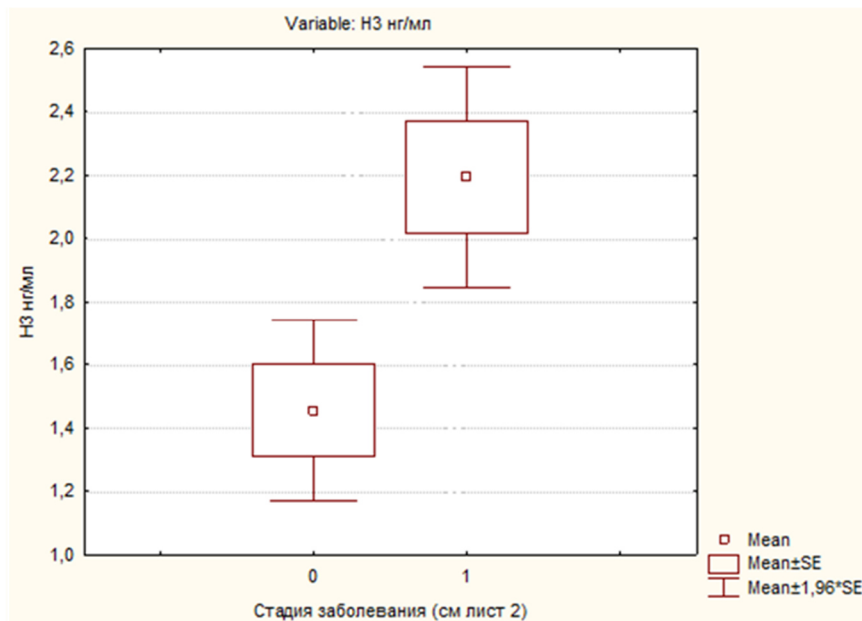


Рисунок 3.3 – Концентрация citH3 гистона у пациенток на стадии 1 TNM (0) и на стадиях 2–3 (1)

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 выбран 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 3.2).

Таблица 3.2 – 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 МПО:Аг у пациенток с количеством лейкоцитов до начала терапии в плазме крови более $7 \times 10^9/\text{л}$ была значительно выше, чем у пациенток с количеством лейкоцитов менее $7 \times 10^9/\text{л}$ (Рисунок 3.4).

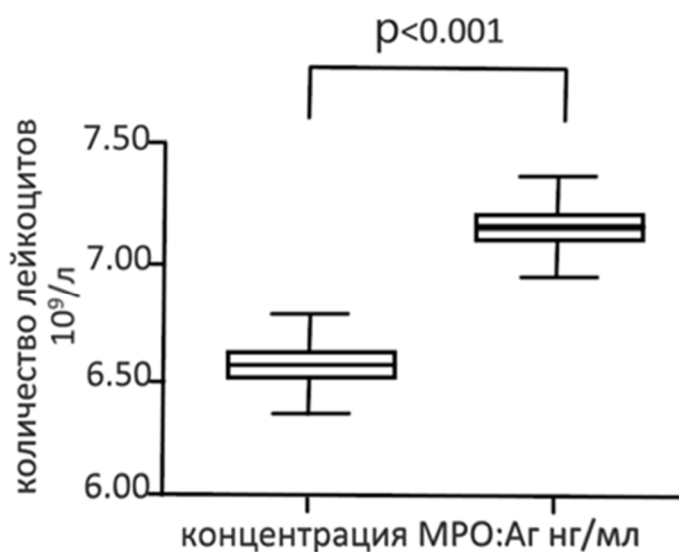


Рисунок 3.4 – Взаимосвязь между количеством лейкоцитов и концентрацией МПО:Аг

3.1.1 Взаимодействие внеклеточных ловушек нейтрофилов и интерлейкина-8

Концентрация интерлейкина-8 была значительно повышена по сравнению с контрольной группой ($12,78 \pm 5,58$ пг/мл) среди онкогинекологических пациенток ($71,3 \pm 25,57$ пг/мл) (Рисунок 3.5).

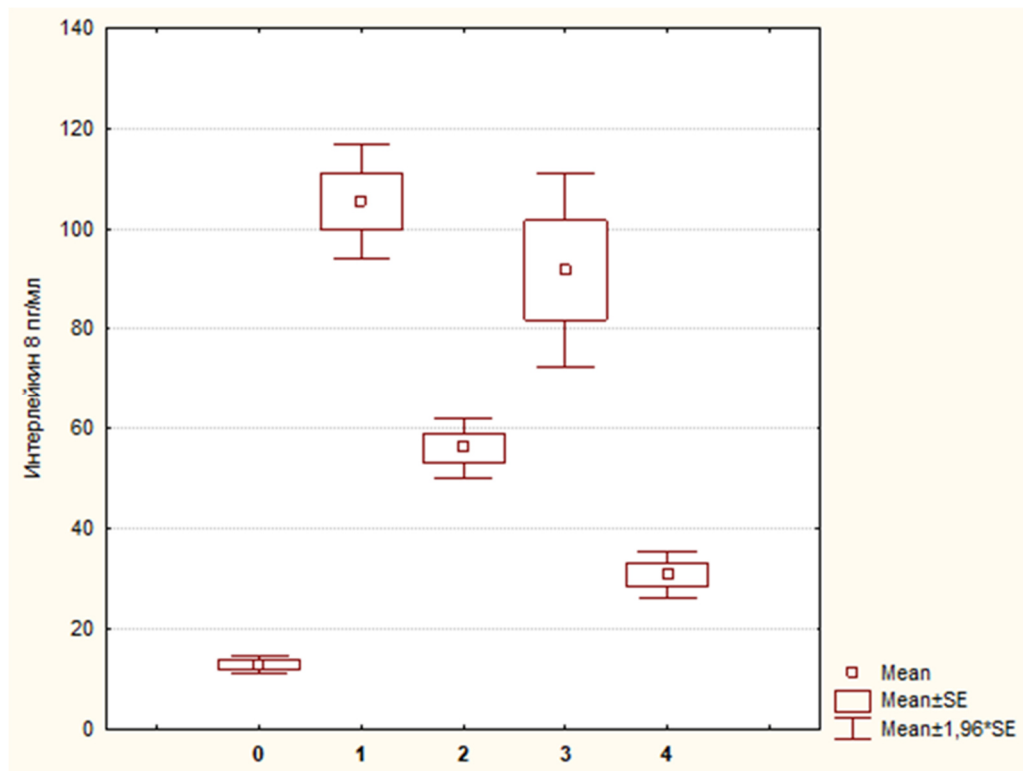


Рисунок 3.5 – Концентрация ИЛ-8 в плазме крови пациенток контрольной группы (0 группа), из групп «рак тела матки» (1 группа), «рак яичников» (2 группа), «рак шейки матки» (3 группа), «рак молочной железы» (4 группа)

Проведена оценка концентрации Д-димера, маркеров активации системы гемостаза и комплексов тромбин-антитромбин (ТАТ), параллельно с оценкой концентрации интерлейкина-8 и концентрации маркеров нетоза. По сравнению с контрольной группой у всех онкологических пациенток результаты исследования демонстрировали достоверное повышение концентрации маркеров активации гемостаза. Повышение при этом зависело от стадии заболевания, и концентрации маркеров росли с ростом стадии. В зависимости от стадии подобный рост

присутствовал также и у концентраций интерлейкина-8 и маркеров нетоза у онкологических пациенток во всех подгруппах основной группы (Рисунок 3.6).

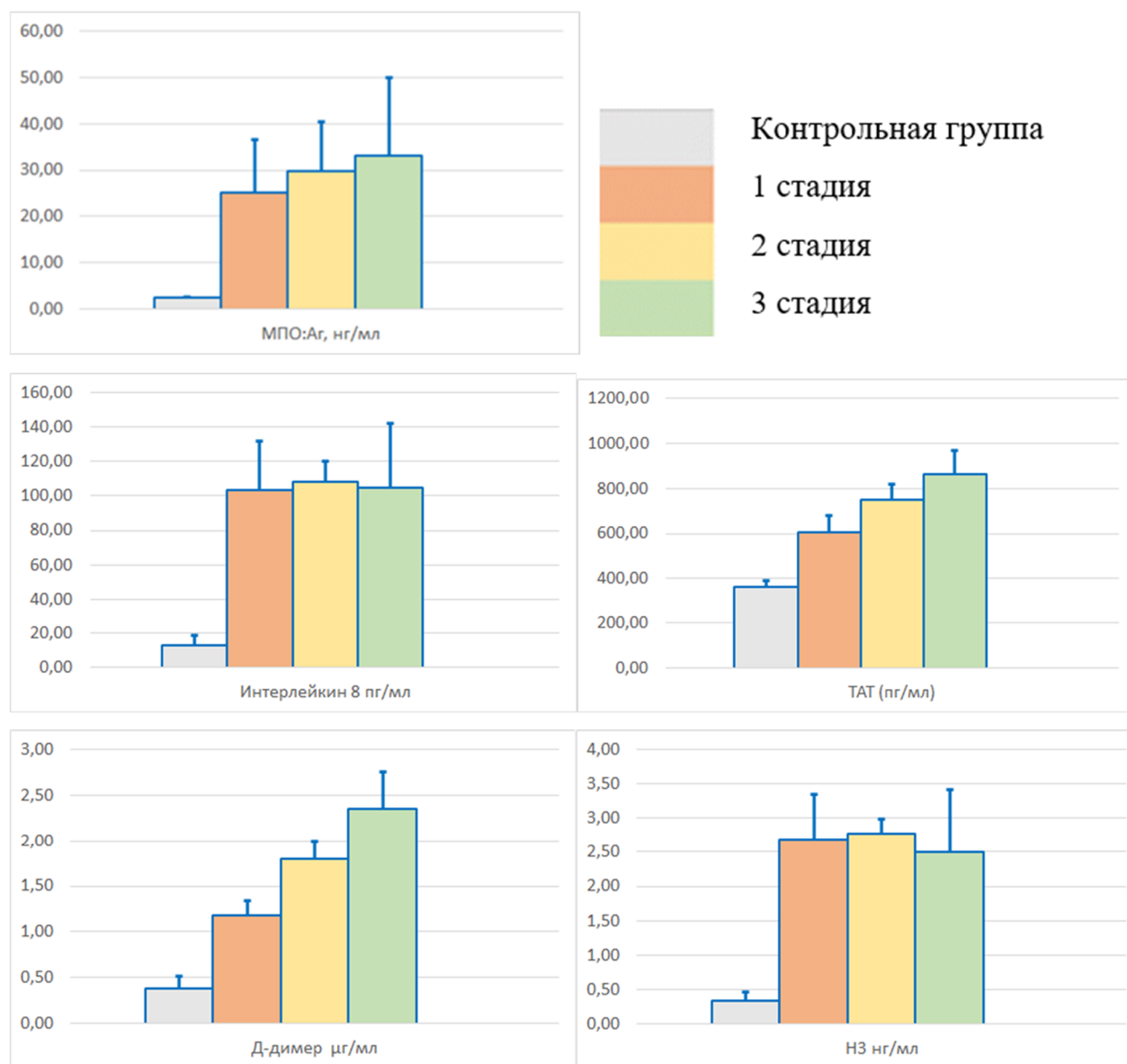


Рисунок 3.6 – Динамика маркеров нетоза и маркеров активации гемостаза, маркеров воспаления в зависимости от стадии заболевания у пациенток подгруппы «рак тела матки». Аналогичная динамика отмечена и в остальных трех подгруппах

При проведении корреляционного анализа выявлена достоверная корреляция между повышением концентрации комплексов тромбин-антитромбин и концентрации *cit*iN3 и МРО:Аг (Таблицы 3.3–3.4).

Корреляционный анализ выявил достоверные зависимости между концентрацией интерлейкина-8 и концентрацией маркеров нетоза (МРО:Аг и ситНЗ). У пациенток подгрупп «рак яичников» и «рак тела матки» определялась корреляция между концентрацией интерлейкина-8 и концентрацией обоих маркеров нетоза (Таблицы 3.5–3.6), в группах пациенток с опухолями молочной железы и шейки матки выявлена корреляционная зависимость между концентрациями интерлейкина-8 и МРО:Аг(Таблицы 3.7–3.8).

Таблица 3.3 – Корреляция между концентрацией маркеров нетоза и концентрацией ТАТ и Д-димера

Показатель	ТАТ, пг/мл		Д-димер, мкг/мл	
	R	p	r	p
Концентрация СитНЗ, 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 3.4 – Корреляционный анализ маркеров нетоза и активации гемостаза (корреляция Спирмена)

Коэффициент ранговой корреляции Спирмена p<,04000				
	ТАТ, пг/мл	Д-димер, нг/мл	СитНЗ, нг/мл	МРО:Аг, нг/мл
ТАТ, пг/мл	1,00	0,90	0,59	0,63
Д-димер, мкг/мл	0,90	1,00	0,42	0,47
НЗ, нг/мл	0,59	0,42	1,00	0,82
МРО:Аг, нг/мл	0,63	0,47	0,82	1,00

Таблица 3.5 – Корреляционный анализ концентраций интерлейкина-8 и маркеров нетоза (МРО:Аг и ситНЗ) у пациенток с опухолями тела матки (жирным шрифтом выделены значения p<0,01)

	Интерлейкин-8, пг/мл	НЗ, нг/мл	МРО:Аг, нг/мл
Интерлейкин-8, пг/мл	1,00	0,74	0,84
НЗ, нг/мл	0,74	1,00	0,59
МРО:Аг, нг/мл	0,84	0,59	1,00

Продолжение Таблицы 3.5

	Интерлейкин 8 пг/мл	НЗ нг/мл	МПО:Аг, нг/мл
Интерлейкин 8 пг/мл			
НЗ нг/мл			
МПО:Аг, нг/мл			

Таблица 3.6 – Корреляционный анализ концентраций интерлейкина-8 и маркеров нетоза (МПО:Аг и *cit*НЗ) у пациенток с опухолями яичников (жирным шрифтом выделены значения $p < 0,01$)

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

	Интерлейкин 8 пг/мл	НЗ нг/мл	МПО:Аг, нг/мл
Интерлейкин 8 пг/мл			
НЗ нг/мл			
МПО:Аг, нг/мл			

Таблица 3.7 – Корреляционный анализ концентраций интерлейкина-8 и маркеров нетоза (МПО:Аг и *cit*НЗ) у пациенток с опухолями шейки матки (жирным шрифтом выделены значения $p < 0,01$)

	Интерлейкин-8, пг/мл	НЗ нг/мл	МПО:Аг, нг/мл
Интерлейкин-8, пг/мл	1,00	0,58	0,79
НЗ, нг/мл	0,58	1,00	0,82
МПО:Аг, нг/мл	0,79	0,82	1,00

Продолжение Таблицы 3.7

	Интерлейкин 8 пг/мл	НЗ нг/мл	МПО:Аг, нг/мл
Интерлейкин 8 пг/мл			
НЗ нг/мл			
МПО:Аг, нг/мл			

Таблица 3.8 – Корреляционный анализ концентраций интерлейкина-8 и маркеров нетоза (МРО:Аг и сitНЗ) у пациенток с опухолями молочной железы (жирным шрифтом выделены значения $p < 0,01$)

	Интерлейкин-8, пг/мл	НЗ, нг/мл	МПО:Аг, нг/мл
Интерлейкин-8, пг/мл	1,00	0,27	0,74
НЗ, нг/мл	0,27	1,00	0,37
МПО:Аг, нг/мл	0,74	0,37	1,00

	Интерлейкин 8 пг/мл	НЗ нг/мл	МПО:Аг, нг/мл
Интерлейкин 8 пг/мл			
НЗ нг/мл			
МПО:Аг, нг/мл			

3.1.2 Взаимодействие внеклеточных ловушек нейтрофилов и антифосфолипидных антител

В подгруппе «рак яичников» у большего количества пациенток (у 37(43,5%) из 85) по сравнению с группой контроля (у 9 (18%) из 50, $p > 0,05$) достоверно были выявлены антитела к бета-2-гликопротеину 1. В остальных подгруппах Достоверных различий выявлено не было. Была выявлена достоверная корреляция между концентрацией МРО:Аг и циркулирующей антител к бета-2-гликопротеину 1 у

пациенток подгруппы «рак яичников» при проведении корреляционного анализа (Рисунок 3.7, Таблица 3.9).

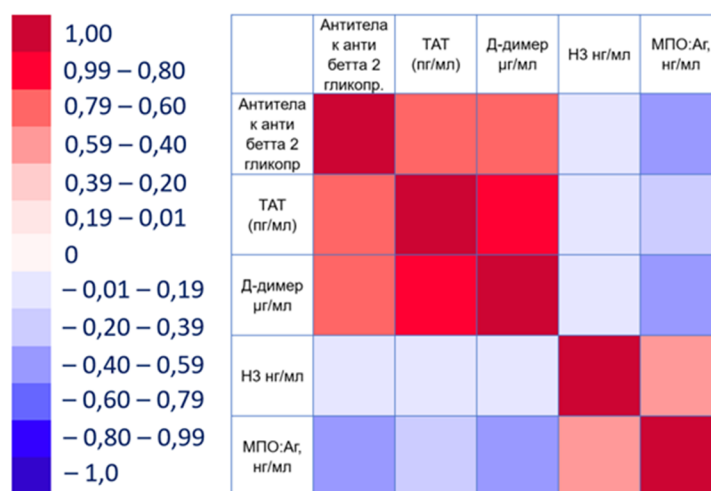


Рисунок 3.7 – Корреляционная зависимость в подгруппе пациенток «рак яичников» между маркером нетоза МПО:Аг и циркуляцией антител к бета-2-гликопротеину 1

Таблица 3.9 – 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)	НЗ (нг/мл)	МПО:Аг (нг/мл)
Антитела к бета-2-гликопротеину 1 (+/-)	1,00	0,64	0,66	-0,09	-0,47
Д-димер (мкг/мл)	0,66	0,80	1,00	-0,07	-0,41
МПО:Аг (нг/мл)	-0,47	-0,35	-0,41	0,44	1,00
НЗ (нг/мл)	-0,09	-0,01	-0,07	1,00	0,44
ТАТ (пг/мл)	0,64	1,00	0,80	-0,01	-0,35

3.1.3 Динамика концентрации маркеров нетоза и активации гемостаза до и после оперативного лечения, а также на фоне курсов химиотерапии

В проспективной группе оперативному лечению подверглись 209 пациенток (подгруппа «рак молочной железы» $n=68$, подгруппа «рак яичников» $n=53$, подгруппа «рак тела матки» $n=78$, подгруппа «рак шейки матки» $n=10$). 53

пациенткам проведена химиотерапия: 30 пациенткам - адъювантная химиотерапия проведена, 23 пациенткам - неoadъювантная (Таблица 3.10).

Таблица 3.10 – Виды противоопухолевой терапии в проспективной группе

	Онкогинекологические пациентки (n=262)							
	РЯ		РТМ		РМЖ		РШМ	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Оперативное лечение	53	62,4	78	96,3	68	83,9	10	66,7
Химиотерапия неoadъювантная	13	15,3	-	-	5	6,2	5	33,3
Химиотерапия адъювантная	19	22,3	3	3,7	8	9,9	-	-

Во всех подгруппах заболеваний на момент поступления в стационар у всех онкологических пациенток концентрации маркеров нетоза (МРО:Аг и citH3) были повышены и достоверно отличались от группы контроля (Таблица 3.11).

Таблица 3.11 – Концентрация маркеров нетоза в проспективной группе до начала терапии

	Онкогинекологические пациентки n= 262				Контрольная группа n=50
	РЯ n=85	РТМ n=81	РМЖ n=81	РШМ n=15	
CitH3 гистон нг/мл M±SD	1,78±1,03				0,33±0,13
	2,04±0,8 p=0,0001	2,62±0,67 p=0,0001	0,76±0,57 p=0,0001	2,31±0,8 p=0,0001	
МПО:Аг нг/мл M±SD	15,97±11,83				2,45±0,20
	13,36±3,94 p=0,0001	29,46±13,11 p=0,0001	6,57±2,72 p=0,0001	21,22±10,00 p=0,0001	
Д-димер мг/мл M±SD	1,74±0,69 (p < 0,05)				0,38±0,13
	2,04±0,72 p < 0,05	1,74±0,58 p < 0,05	1,59±0,69 p < 0,05	1,43±0,6 p < 0,05	
ТАТ пг/мл M±SD	726,14±134,16 (p < 0,05)				362,3±30,15
	809,29±155,47 p < 0,05	6819,41±135,23 p < 0,05	699,63±15,68 p < 0,05	636,15±149,45 p < 0,05	

Анализ концентрации маркеров нетоза проводился далее через 14 дней после 2 курса химиотерапии либо на 14 сутки после оперативного лечения. В Таблицах 3.12–3.13 представлены показатели активации гемостаза и концентрации маркеров

нетоза у пациенток через 14 дней после 2 курса химиотерапии (n=53) и у пациенток через 14 дней после операции (n=209).

Сравнение концентрации маркеров нетоза проведено у пациенток, госпитализированных для проведения химиотерапии до и после 2 курса химиотерапии и концентрации маркеров нетоза у пациенток, прошедших оперативное лечение, до и после вмешательства. У пациенток в послеоперационном периоде достоверных различий с дооперационными значениями концентрации маркеров нетоза и активации гемостаза выявлено не было (Таблица 3.14), однако средние значения показателей имели тенденцию к снижению. Через 14 дней после 2 курса химиотерапии отмечено достоверное повышение концентрации маркеров нетоза (Таблица 3.15).

Таблица 3.12 – Концентрация маркеров нетоза в проспективной группе после оперативного лечения

	Онкогинекологические пациентки n= 209				Контрольная группа n=50
	РЯ n=53	РТМ n=78	РМЖ n=68	РШМ n=10	
СitH3 гистон нг/мл M±SD	2,87±0,98 p=0,0001	2,64±0,68 p=0,0001	0,61±0,44 p=0,0001	2,45±0,52 p=0,0003	0,33±0,13
МПО:Аг нг/мл M±SD	15,37±1,76 p=0,0001	29,48±11,42 p=0,0001	6,84±2,29 p=0,0001	29,27±6,84 p=0,0001	2,45±0,20

Таблица 3.13 – Концентрация маркеров нетоза в проспективной группе через 14 дней после 2 курса химиотерапии

	Онкогинекологические пациентки n= 53				Контрольная группа n=50
	РЯ n=32	РТМ n=3	РМЖ n=13	РШМ n=5	
СitH3 гистон нг/мл M±SD	3,95±5,83 p=0,0001	2,64±3,41 p=0,0001	1,85±1,35 p=0,0001	2,42±0,51 p=0,0001	0,33±0,13
МПО:Аг нг/мл M±SD	22,5±6,58 p=0,0001	29,41±4,54 p=0,0001	13,26±4,24 p=0,0001	26,11±4,12 p=0,0001	2,45±0,20

Таблица 3.14 – 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
МПО: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 мг/мл (M±SD)	1,74±0,69	1,34±0,51	> 0,05

Таблица 3.15 – 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
МПО: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 мг/мл (M±SD)	1,74±0,69	2,985±2,45	≤ 0,05

Пациенткам было решено начать использование низкомолекулярного гепарина в стандартных рекомендованных профилактических дозах учитывая рост показателей концентрации маркеров активации системы гемостаза и маркеров нетоза и у пациенток через 14 дней после 2 курса химиотерапии. При этом, учитывая выраженность процессов тромбовоспаления, 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, 1 подгруппа из 25 пациенток с хроническим гастритом использовали НМГ, а 28 пациенток 2 подгруппы 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, МПО: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, МПО:Аг $15,12\pm 4,28$ нг/мл, $p<0,05$) и маркеров активации гемостаза (ТАТ $868,23\pm 103,25$ пг/мл, Д-димер $1,69\pm 0,52$ мкг/мл $p<0,05$). Достоверных различий выявлено не было при сравнении показателей двух подгрупп при том, что средние значения у пациенток подгруппы НМГ+аспирин были ниже, чем в подгруппе НМГ (Таблица 3.16).

Таблица 3.16 – Концентрация маркеров нетоза и активации гемостаза у онкологических пациенток до и через 14 дней после 2, 4 и 6 курсов химиотерапии на фоне использования НМГ и НМГ+аспирин

Показатель	n=53					
	до ХТ	через 2 недели после 2 курса ХТ	через 2 недели после 4 курса ХТ		через 2 недели после 6 курса ХТ	
			НМГ (n=25)	НМГ + аспирин (n=28)	НМГ (n=25)	НМГ + аспирин (n=28)
CitH3 гистон нг/мл M±SD	1,23±0,71	2,46±1,24 p<0,05	1,35±0,36 p<0,05	1,15±0,36 p<0,05	1,12±0,54 p>0,05	0,98±0,61 p>0,05
МПО:Аг нг/мл M±SD	16,02±4,36	22,76±7,31 p<0,05	17,54±3,29 p<0,05	15,12±4,28 p<0,05	16,03±0,24 p>0,05	13,31±0,69 p>0,05
ТАТ пг/мл M±SD	726,14±134,16	1210,35±98,97 p<0,05	894,58±112,23 p<0,05	868,23±103,25 p<0,05	753,11±112,03 p>0,05	597,24±122,54 p>0,05
Д-димер мкг/мл M±SD	1,74±0,69	2,985±2,45 p<0,05	1,81±0,73 p<0,05	1,69±0,52 p<0,05	1,52±0,48 p>0,05	1,38±0,71 p>0,05

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±0,54 нг/мл, МПО:Аг 16,03±0,24 нг/мл, подгруппа НМГ, CitH3 гистон 0,98±0,61 нг/мл, МПО:Аг 13,31±0,69 нг/мл, подгруппа НМГ+аспирин) и активации гемостаза (ТАТ 753,11±112,03 пг/мл, Д-димер 1,52±0,48 мкг/мл, подгруппа НМГ, ТАТ 597,24±122,54 пг/мл, Д-димер 1,38±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).

3.2 Определение антигена, активности и ингибитора ADAMTS13, концентрации фактора фон Виллебранда, отношения фактора фон Виллебранда/ADAMTS13:антиген до и после противоопухолевой терапии

При оценке значений концентрации антигена (ADAMTS13:Аг), активности ADAMTS13 (ADAMTS13:Ак), фактора фон Виллебранда (VWF:Аг) и отношения VWF/ADAMTS13:Аг было показано, что концентрация фактора фон Виллебранда у онкогинекологических пациенток была повышена на фоне снижения концентрации антигена и активности ADAMTS13 ($p < 0,0001$).

Среди онкогинекологических пациенток наиболее низкая концентрация ADAMTS13:Аг выявлена в подгруппе больных «рак тела матки» ($0,31 \pm 0,05$ МЕ/мл). Средняя концентрация ADAMTS13:Аг среди онкогинекологических пациенток составила $0,40 \pm 0,12$ МЕ/мл. Не было выявлено достоверных различий при сравнении показателей между подгруппами заболеваний. В контрольной группе средняя концентрация ADAMTS13:Аг составила $0,98 \pm 0,34$ МЕ/мл (при норме от 0,4 до 1,41 МЕ/мл, согласно данным производителя тест-системы) (Таблица 3.17, Рисунок 3.8).

Таблица 3.17 – Лабораторные показатели обследованных подгрупп проспективной группы

Показатели	Онко пациентки n=262	РТМ n=81	РЯ n=85	РШМ n=15	РМЖ n=81	Контрол. группа n=50
VWF:Аг, МЕ/мл (n=0,5-1,5)	$1,94 \pm 0,64$	$2,53 \pm 0,48$	$1,98 \pm 0,6$	$1,87 \pm 0,8$	$1,51 \pm 0,33$	$0,93 \pm 0,37$
ADAMTS13:Ак, МЕ/мл (n=0,4-1,3)	$0,43 \pm 0,13$	$0,35 \pm 0,06$	$0,49 \pm 0,15$	$0,50 \pm 0,14$	$0,43 \pm 0,09$	$0,88 \pm 0,29$
Ингибитор ADAMTS13:Инг (n<15 МЕ/мл)	$5,0 \pm 2,17$	$4,81 \pm 2,32$	$6,21 \pm 2,11$	$4,82 \pm 2,23$	$5,02 \pm 2,43$	$0,25 \pm 0,17$
ADAMTS13:Аг, МЕ/мл (n=0,4-1,41)	$0,40 \pm 0,12$	$0,31 \pm 0,05$	$0,46 \pm 0,14$	$0,47 \pm 0,13$	$0,39 \pm 0,1$	$0,98 \pm 0,34$
VWF/ADAMTS13:Аг	4,78	8,11	4,22	3,91	3,86	0,94

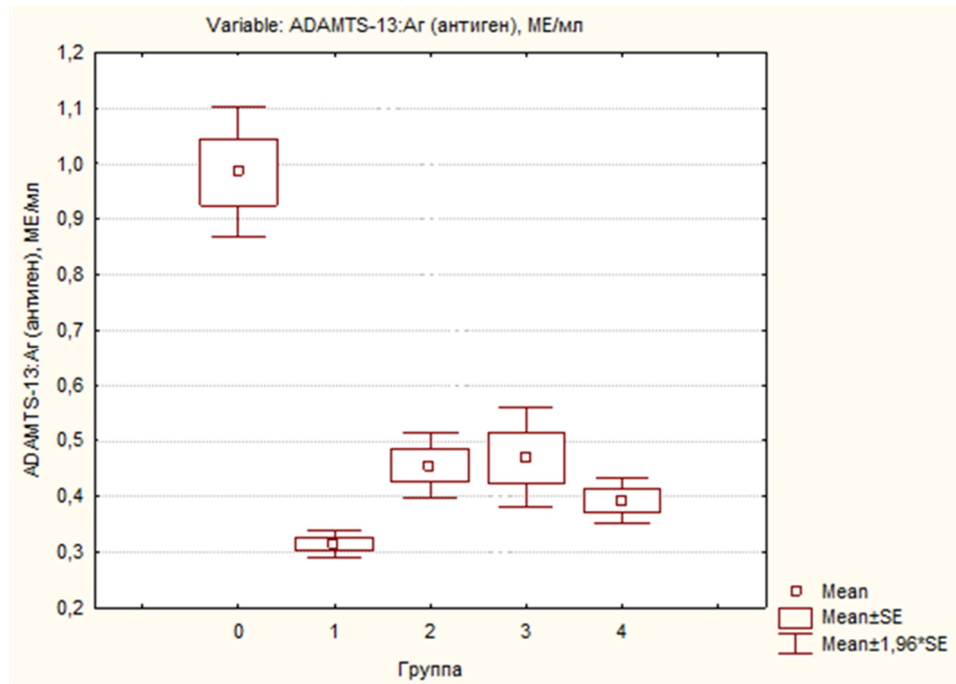


Рисунок 3.8 – Концентрация ADAMTS13:Ag у пациенток контрольной группы (0) и подгрупп «рак тела матки» (1), «рак яичников» (2), «рак шейки матки» (3), «рак молочной железы» (4)

Активность ADAMTS13:Ак была в среднем минимальная у пациенток подгруппы «рак тела матки» $0,35 \pm 0,06$ ME/мл. В целом, ADAMTS13:Ак достоверно не отличалась в подгруппах онкогинекологических пациенток, достоверно отличаясь от контрольной группы, где ее показатель составил $0,88 \pm 0,29$ ME/мл (Рисунок 3.9).

При определении концентрации ингибитора ADAMTS13 были получены значения, превышающие показатели контрольной группы, у всех онкогинекологических пациенток. У пациенток подгруппы «рак яичников» определена максимальная концентрация ингибитора ADAMTS13 – $6,21 \pm 2,11$ ME/мл. Концентрация ингибитора ADAMTS13 в контрольной группе составила $0,25 \pm 0,17$ ME/мл. При этом у всех пациенток концентрация находилась в пределах референсных значений.

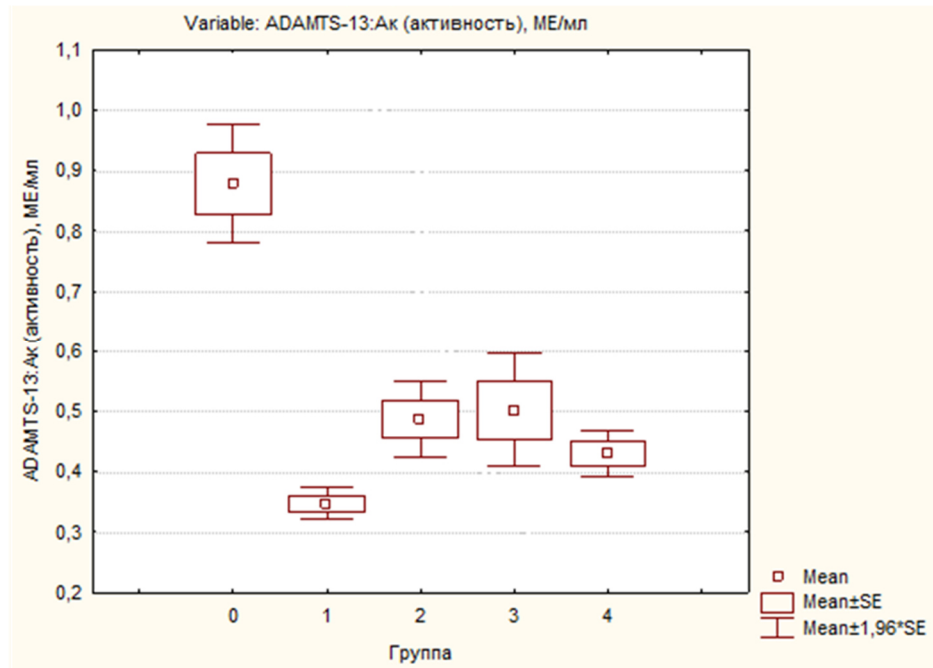


Рисунок 3.9 – Активность ADAMTS13:Ак у пациенток контрольной группы (0) и подгрупп «рак тела матки» (1), «рак яичников» (2), «рак шейки матки» (3), «рак молочной железы» (4)

У большей части онкогинекологических пациенток при определении концентрации фактора фон Виллебранда (VWF:Аг) было выявлено ее повышение. В подгруппе «рак тела матки» была определена максимальная концентрация показателя, которая 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 (Рисунок 3.10).

Отмечены достоверные различия между пациентками на стадиях 2–3 и на стадии 1 TNM в концентрации VWF:Аг. Достоверных различий при оценке показателей ADAMTS13:Аг и ADAMTS13:Ак и ADAMTS13:Инг между пациентками на стадиях 2–3 и на стадии 1 TNM выявлено не было (Рисунок 3.11).

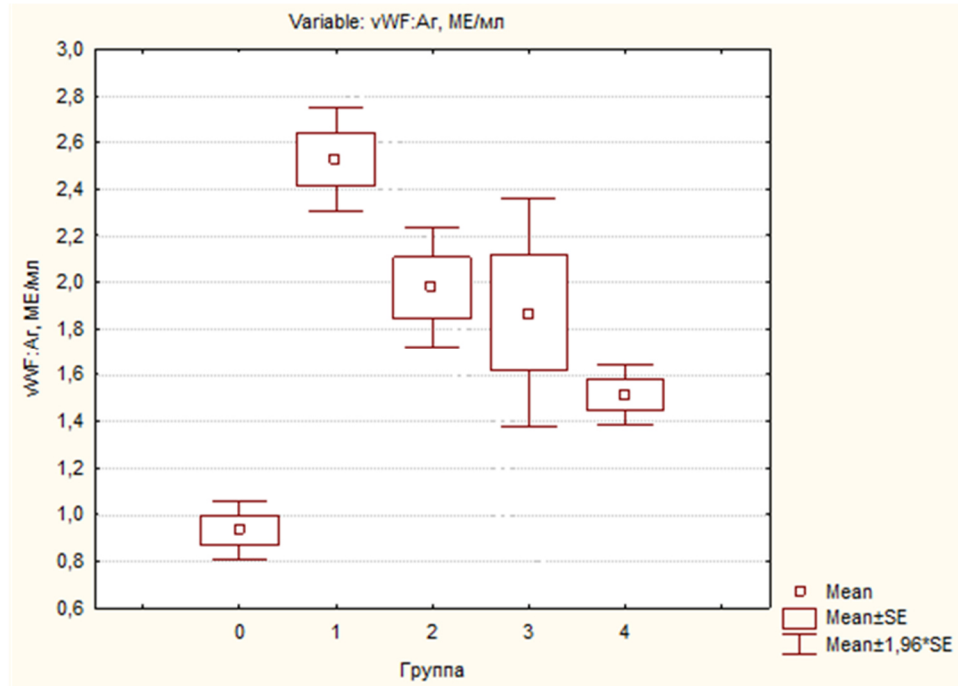


Рисунок 3.10 – Концентрация VWF:Ag у пациенток контрольной группы (0) и подгрупп «рак тела матки» (1), «рак яичников» (2), «рак шейки матки» (3), «рак молочной железы» (4)

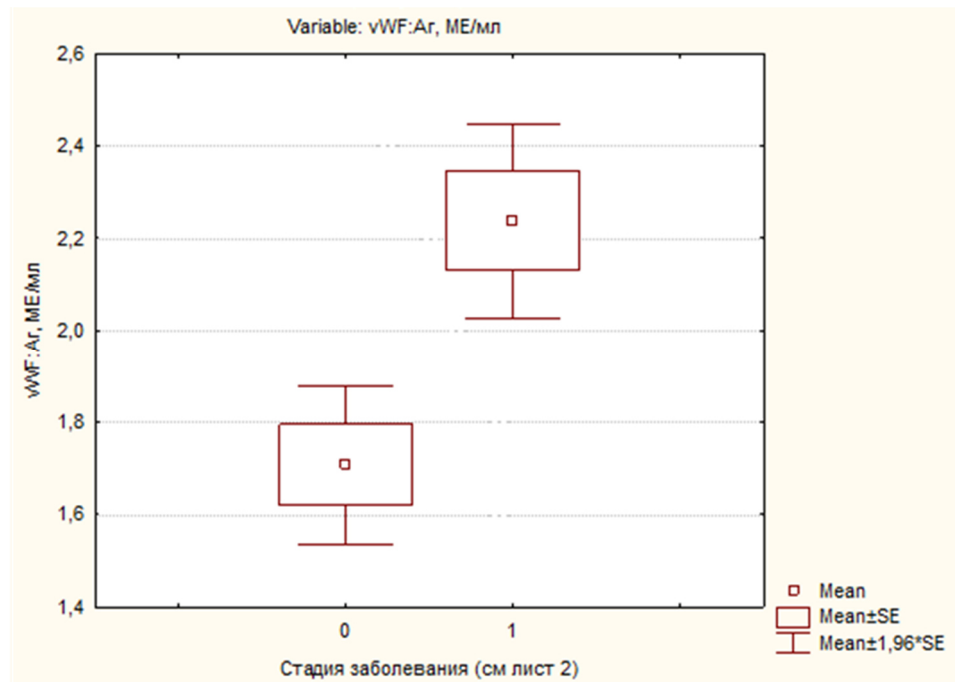


Рисунок 3.11 – Концентрация VWF:Ag у пациенток на стадии 1 TNM (0) и на стадии 2–3 TNM (1)

Далее были оценены корреляции между выявленными показателями и маркерами нетоза. Корреляционный анализ показал, что только среди пациенток из

группы «рак яичников» с увеличением концентрации МПО:Аг снижаются концентрации ADAMTS13:Аг ($\rho=-0,60$, $p<0,01$) и ADAMTS13:Ак ($\rho=-0,58$, $p<0,01$), с ростом концентрации НЗ нг/мл снижаются ADAMTS13:Аг ($\rho=-0,69$, $p<0,01$) и ADAMTS13:Ак ($\rho=-0,62$, $p<0,01$) (Рисунок 3.12, Таблица 3.18).

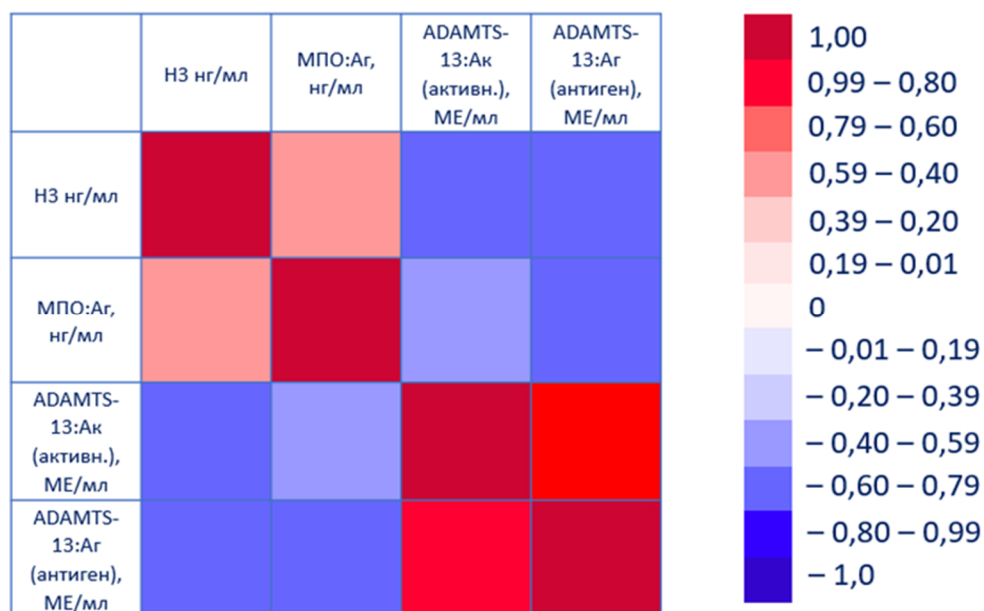


Рисунок 3.12 – Корреляция Спирмена между показателями citH3, МПО:Аг, ADAMTS13:Аг, ADAMTS13:Ак в группе «рак яичников»

Таблица 3.18 – Концентрация маркеров нетоза, ADAMTS13:Аг и ADAMTS13: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
МПО: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
ADAMTS13: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
ADAMTS13: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

При оценке корреляций в других группах онкологических пациенток достоверных показателей выявлено не было.

Во всех подгруппах корреляционный анализ показал, что с увеличением концентрации НЗ нг/мл повышается концентрация МПО:Аг, нг/мл ($\rho=0,87$, $p<0,01$) и VWF:Аг ($\rho=0,80$, $p<0,01$); с увеличением концентрации VWF:Аг, МЕ/мл снижаются ADAMTS13:Аг ($\rho=-0,42$, $p<0,01$) и ADAMTS13:Ак ($\rho=-0,43$, $p<0,01$), с увеличением концентрации МПО:Аг увеличивается концентрация VWF:Аг, МЕ/мл ($\rho=0,70$, $p<0,01$) (Рисунок 3.13).

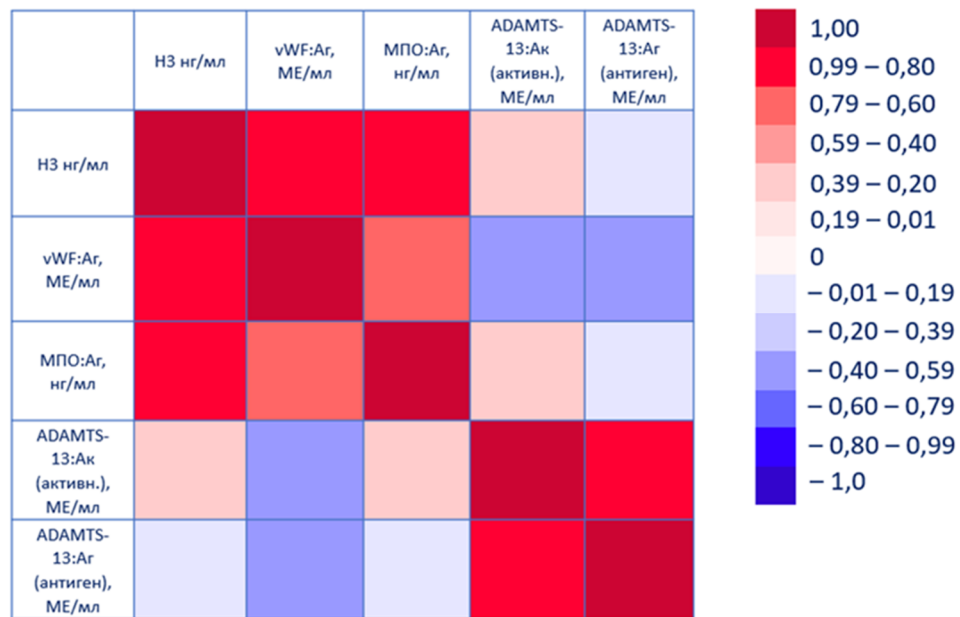


Рисунок 3.13 – Корреляция Спирмена между показателями citH3, VWF:Аг, МПО:Аг, ADAMTS13:Аг, ADAMTS13:Ак для онкогинекологических пациенток

Наиболее выражено зависимость продемонстрирована в группе пациенток «рак яичников». Среди пациенток подгруппы рак яичников корреляционный анализ показал, что с ростом концентрации МПО:Аг нг/мл снижается ADAMTS13:Аг ($\rho=-0,60$ $p<0,01$) и ADAMTS13:Ак ($\rho=-0,58$ $p<0,01$), с ростом концентрации CitH3 нг/мл снижается ADAMTS13:Аг ($\rho=-0,62$ $p<0,01$) и ADAMTS13:Ак ($\rho=-0,62$ $p<0,01$), с ростом концентрации VWF:Аг снижается ADAMTS13:Аг ($\rho=-0,86$ $p<0,01$) и ADAMTS13:Ак ($\rho=-0,84$ $p<0,01$), с ростом концентрации CitH3 нг/мл повышается концентрация VWF:Аг ($\rho=0,76$, $p<0,01$) (Рисунок 3.14).

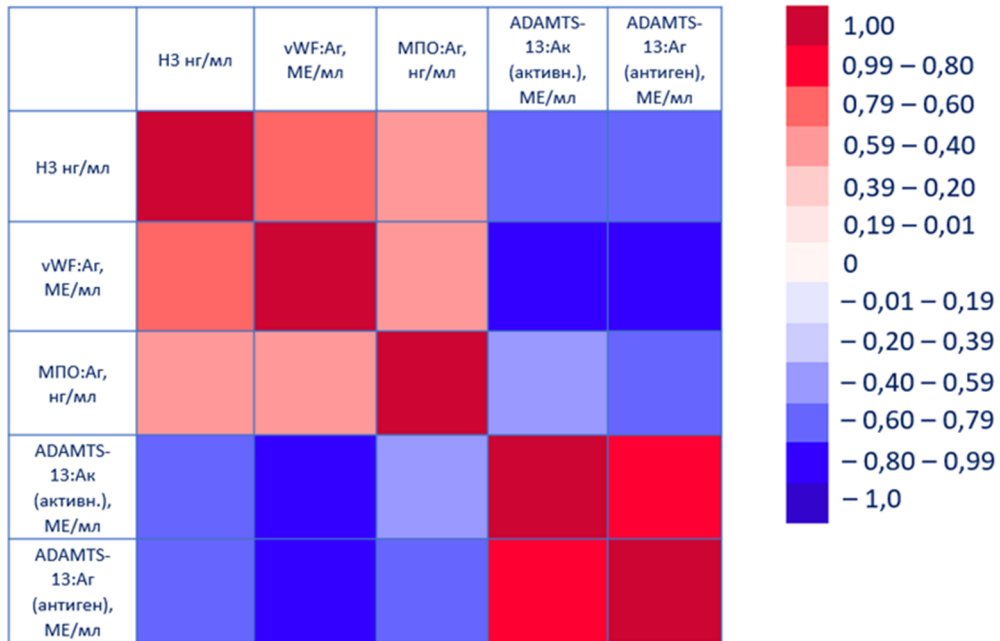


Рисунок 3.14 – Корреляция Спирмена между переменными в группе пациенток «рак яичников» H3, MPO:Аг, ADAMTS13:Ак, ADAMTS13:Аг, VWF:Аг

В группе пациенток «рак шейки матки» корреляционный анализ показал корреляцию между концентрацией CitH3 нг/мл и концентрацией MPO:Аг, нг/мл ($\rho=0,84$, $p<0,01$) и VWF:Аг ($\rho=0,83$, $p<0,01$). Корреляционная зависимость выявлена и в группе пациенток «рак молочной железы». Там с ростом концентрации CitH3 нг/мл росла концентрация VWF:Аг ($\rho=0,74$, $p<0,01$).

Оценка концентрации, активности, ингибитора ADAMTS13:Инг, концентрации VWF и отношения VWF/ADAMTS13:Аг проводилась в проспективной группе дважды: до лечения и на 14 сутки после оперативного лечения или через 2 недели после 2 курса химиотерапии. В проспективной группе подверглись оперативному лечению 209 пациенток (подгруппа «рак яичников» $n=53$, подгруппа «рак тела матки» $n=78$, подгруппа «рак молочной железы» $n=68$, подгруппа «рак шейки матки» $n=10$). 53 пациенткам проведена химиотерапия: 30 пациенткам проведена адьювантная химиотерапия, неоадьювантная – 23 пациенткам. При анализе показателей VWF:Аг, ADAMTS13:Аг, ADAMTS13:Ак, отношения VWF:Аг/ ADAMTS13:Аг, ингибитора ADAMTS13:Инг до начала химиотерапии и оперативного лечения и после химиотерапии и оперативного

лечения у пациенток выявлены достоверные различия по сравнению с контрольной группой (Таблица 3.19).

Таблица 3.19 – Концентрации ADAMTS13:Ак, ADAMTS13:Инг, ADAMTS13:Аг, VWF:Аг, отношения VWF:Аг/ADAMTS13:Аг по сравнению с контрольной группой у пациенток до и после терапии

Показатель	Контрольная группа (n=50)	До начала терапии (n=262)	После оперативного лечения (n=209)	После химиотерапии (n=53)
VWF:Аг МЕ/мл (M±SD)	0,93±0,37	1,94±0,64 (p=0,001)	1,81±0,23 (p=0,001)	2,34±0,42 (p=0,001)
ADAMTS13:Аг ЕД/мл (M±SD)	0,98±0,34	0,40±0,12 (p=0,001)	0,55±0,11 (p=0,001)	0,34±0,07 (p=0,001)
ADAMTS13:Ак ЕД/мл (M±SD)	0,88±0,29	0,43±0,13	0,65±1,10	0,39±2,17
VWF:Аг/ ADAMTS13:Аг	0,94	4,39 (p=0,001)	4,05 (p=0,001)	6,42 (p=0,001)
ADAMTS13:Инг МЕ/мл (M±SD)	0,25±0,17	5,0±2,17	4,9±2,21	7,28±2,34

Профилактика тромботических осложнений пациенткам на фоне оперативного лечения проводилась в профилактических дозах препаратами низкомолекулярного гепарина в зависимости от выявленной степени риска тромботических осложнений и массы тела. Оценка риска проводилась по шкале Caprini. За 12 часов до оперативного лечения осуществлялось профилактическое введение НМГ, далее в течение 4 недель один раз в сутки.

Оценка динамики показателей продемонстрировала, что концентрация ТАТ и Д-димера, концентрация ADAMTS13:Аг, ингибитора ADAMTS13:Инг, отношения VWF/ADAMTS13:Аг, ADAMTS13:Ак, VWF:Аг, до и после оперативного лечения на фоне стандартной тромбопрофилактики низкомолекулярным гепарином достоверно не изменились. Средние значения при этом отношения VWF/ADAMTS13:Аг и концентрации VWF:Аг имели тенденцию к снижению, а концентрации ADAMTS13:Ак и ADAMTS13:Аг, к росту. Динамика показателей концентрации Д-димера, ТАТ, отношения VWF/ADAMTS13:Аг,

ADAMTS13:Аг, ингибитора ADAMTS13:Инг, ADAMTS13:Ак и VWF:Аг после 2 курса химиотерапии через 14 дней достоверно изменилась (Таблица 3.20). Всем пациенткам, которым проводилась химиотерапия при 1 и 2 курсах, низкомолекулярный гепарин не вводился (учитывая нормальные показатели рутинных тестов коагулограммы и стандартной оценки риска).

Таблица 3.20 – Динамика показателей концентрации ТАТ, Д-димера, концентрации ADAMTS13:Инг, ADAMTS13:Ак, ADAMTS13:Аг, VWF:Аг, отношения VWF:Аг/ADAMTS13:Аг, у пациенток после химиотерапии и оперативного лечения по сравнению с исходными показателями

Показатель	До начала лечения (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/ ADAMTS13:Аг	4,39	4,05 (p> 0,05)	6,42 (p<0,05)
ADAMTS13:Ак ЕД/мл (M±SD)	0,43±0,13	0,65±1,10 (p> 0,05)	0,39±2,17 (p≤0,05)
ADAMTS13: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 μг/мл (M±SD)	1,74±0,69	1,34±0,51 (p> 0,05)	2,985±2,45 (p≤0,05)

Были выявлены по результатам исследования различия концентрации VWF:Аг, ADAMTS13:Аг, ADAMTS13:Ак, ингибитора ADAMTS13:Инг, отношения VWF:Аг/ADAMTS13:Аг и концентрации ТАТ, Д-димера между группой химиотерапии и оперативного лечения. Динамика была более выражена в группе после химиотерапии по сравнению со значениями показателей в группе после оперативного лечения (Таблица 3.21) [249]. Выявлены достоверные различия между группой химиотерапии и оперативного лечения по таким показателям, как

концентрация ТАТ, Д-димера, ADAMTS13:Аг, VWF:Аг, и отношения VWF:Аг/ADAMTS13:Аг.

Таблица 3.21 – Различия показателей концентрации ТАТ и Д-димера, ADAMTS13:Аг, VWF:Аг, отношения VWF:Аг/ADAMTS13:Аг, ADAMTS13:Ак, ADAMTS13:Инг между группами химиотерапии и оперативного лечения

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
ADAMTS13:Аг, ЕД/мл (M±SD)	0,55±0,11	0,34±0,07	0,001
ADAMTS13:Ак, ЕД/мл (M±SD)	0,65±1,10	0,39±2,17	>0,05
ADAMTS13:Инг, МЕ/мл (M±SD)	4,9±2,21	7,28±2,34	>0,05
VWF:Аг/ADAMTS13: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

В группе пациенток после химиотерапии при проведении корреляционного анализа было показано, что отношение VWF:Аг/ADAMTS13:Аг и рост концентрации VWF:Аг достоверно были связаны с ростом концентрации ТАТ ($p \leq 0,05$) (Таблица 3.22, Рисунок 3.15).

Таблица 3.22 – Корреляционная матрица между концентрацией ADAMTS13:Аг, VWF:Аг, отношением VWF:Аг/ADAMTS13:Аг и маркерами активации гемостаза (ТАТ и Д-димер) у пациенток после химиотерапии (по Спирмену) $p \leq 0,05$

	ТАТ (пг/мл)	Д-димер (мкг/мл)	VWF:Аг (МЕ/мл)	ADAMTS13:Аг (Ед/мл)	Отношение VWF:Аг/ADAMTS13:Аг
ТАТ (пг/мл)	1,00	0,65	-0,38	0,11	-0,38
VWF:Аг (МЕ/мл)	-0,38	-0,16	1,00	-0,26	0,84
ADAMTS13:Аг (Ед/мл)	0,11	-0,11	-0,26	1,00	-0,68
Д-димер (мкг/мл)	0,65	1,00	-0,16	-0,11	-0,10
VWF:Аг/ADAMTS13:Аг	-0,38	-0,10	0,84	-0,68	1,00

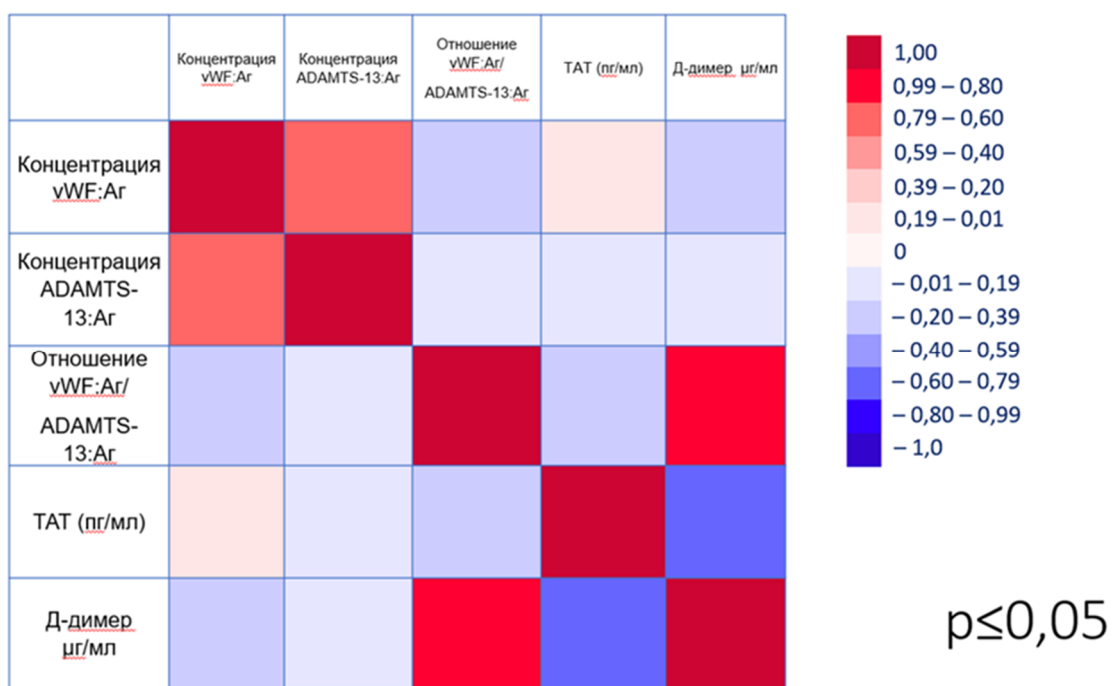


Рисунок 3.15 – Корреляция Спирмена между переменными

Таким образом, исследование, проведенное в проспективной группе пациенток, показало, что концентрация маркеров нетоза среди онкогинекологических пациенток ($citH3$ $1,78 \pm 1,03$ нг/мл ($p < 0,05$), МРО:Аг $15,97 \pm 11,83$ нг/мл ($p < 0,05$)) была достоверно повышена по сравнению с контрольной группой ($citH3$ $0,33 \pm 0,13$ нг/мл, МРО:Аг $2,45 \pm 0,2$ нг/мл). Максимально высокие показатели выявлены среди пациенток с аденокарциномой тела ($citH3$ $2,62 \pm 0,67$ нг/мл, МРО:Аг $29,46 \pm 13,11$ нг/мл) и шейки матки ($citH3$ $2,31 \pm 0,8$ нг/мл, МРО:Аг $21,22 \pm 10,0$ нг/мл).

Степень выраженности тромбовоспаления до начала терапии была тем выше, чем больше стадия заболевания. Концентрация лейкоцитов в плазме крови более $7 \times 10^9/l$ на 2–3 стадии заболеваний отмечалась достоверно чаще, чем на 1 стадии ($p < 0,001$). Концентрация МРО:Аг у пациенток с количеством лейкоцитов более $7 \times 10^9/l$ была достоверно выше, чем при концентрации ниже $7 \times 10^9/l$ ($p < 0,001$).

При динамической оценке маркеров нетоза и активации гемостаза у пациенток после химиотерапии было показано, что через 14 дней после 2 курса химиотерапии произошел достоверный рост концентрации как $citH3$ (до $1,23 \pm 0,71$ нг/мл, после $2,46 \pm 1,24$ нг/мл ($p = 0,0001$)), так и МРО:Аг (до $16,02 \pm 4,36$ нг/мл, после

22,76±7,31 нг/мл ($p=0,0001$)) у всех онкогинекологических пациенток. Через 2 недели после 4 курса химиотерапии в подгруппе пациенток ($n=25$), использовавших НМГ, произошло достоверное снижение концентрации как маркеров нетоза (CitH3 гистон $1,35\pm 0,36$ нг/мл, МПО: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 $1,81\pm 0,73$ $\mu\text{г/мл}$ $p<0,05$). 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, МПО:Аг $15,12\pm 4,28$ нг/мл, $p<0,05$) и маркеров активации гемостаза (ТАТ $868,23\pm 103,25$ пг/мл, Д-димер $1,69\pm 0,52$ $\mu\text{г/мл}$ $p<0,05$). Достоверных различий при сравнении показателей двух подгрупп выявлено не было. Средние значения при этом у пациенток подгруппы НМГ+аспирин были ниже, чем в подгруппе НМГ. При этом через 2 недели после 6 курса химиотерапии в обеих подгруппах продолжалась тенденция к снижению концентрации маркеров нетоза (CitH3 гистон $1,12\pm 0,54$ нг/мл, МПО:Аг $16,03\pm 0,24$ нг/мл, подгруппа НМГ, CitH3 гистон $0,98\pm 0,61$ нг/мл, МПО:Аг $13,31\pm 0,69$ нг/мл, подгруппа НМГ + аспирин) и активации гемостаза (ТАТ $753,11\pm 112,03$ пг/мл, Д-димер $1,52\pm 0,48$ $\mu\text{г/мл}$, подгруппа НМГ, ТАТ $597,24\pm 122,54$ пг/мл, Д-димер $1,38\pm 0,71$ $\mu\text{г/мл}$, 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 незначимыми ($p>0,05$).

У онкогинекологических пациенток концентрация провоспалительного ИЛ-8 до начала терапии по сравнению с контрольной группой ($12,78\pm 5,58$ пг/мл) была достоверно повышена ($71,3\pm 25,57$ пг/мл), степень повышения показателя коррелировала со стадией заболеваний. Выявлена корреляция между маркерами нетоза и концентраций ИЛ-8 ($p<0,01$). У всех онкогинекологических пациенток также концентрации Д-димера и ТАТ до начала терапии (химиотерапии и оперативного лечения) были достоверно выше, чем в группе контроля, и степень повышения их коррелировала со стадией заболевания.

Результатом исследования в проспективной группе является также и корреляционная зависимость, которая определена между повышением концентрации маркеров нетоза и маркером активации гемостаза комплексами ТАТ ($p < 0,05$).

В проспективной группе было показано, что циркуляция анти бета-2-гликопротеина 1 достоверно чаще по сравнению с контрольной группой (у 9(18%) из 50, $p > 0,05$) отмечалась среди пациенток с раком яичников (у 37(43,5%) из 85). Среди этих пациенток была выявлена корреляция между циркуляцией анти-бета-2-гликопротеина 1 и концентрацией МРО:Аг, ТАТ и Д-димером ($p \leq 0,01$).

При анализе показателей функционирования оси ADAMTS13/VWF у онкогинекологических пациенток и в контрольной группе было выявлено достоверное повышение концентрации VWF ($1,94 \pm 0,64$ МЕ/мл), при снижении антигена ($0,40 \pm 0,12$ МЕ/мл) и активности ADAMTS13 ($0,43 \pm 0,13$ МЕ/мл) ($p < 0,0001$). Концентрация ингибитора ADAMTS13 у онкогинекологических пациенток ($5,0 \pm 2,17$ МЕ/мл) достоверно превышала показатель в контрольной группе ($0,25 \pm 0,17$ МЕ/мл), но не превышала нормальные показатели (< 15 МЕ/мл). В зависимости от стадии отмечено достоверное повышение показателя концентрации VWF у онкогинекологических пациенток. Более выраженные изменения функционирования оси были выявлены у пациенток с аденокарциномой эндометрия.

У всех онкогинекологических пациенток выявлена корреляционная зависимость между концентрацией маркеров нетоза и концентрацией VWF, а также VWF/ADAMTS13:Аг ($p < 0,01$). Только у пациенток с раком яичников выявлена достоверная корреляционная зависимость между маркерами нетоза и концентрацией и активностью ADAMTS13 ($p < 0,01$).

Через 2 недели после 2 курса химиотерапии у всех онкогинекологических пациенток был выявлен достоверный значительный рост концентрации VWF:Аг ($2,34 \pm 0,42$ МЕ/мл ($p < 0,05$)), отношения VWF:Аг/ADAMTS13:Аг 6,42 ($p < 0,05$), концентрации ADAMTS13:Инг $7,28 \pm 2,34$ МЕ/мл ($p < 0,05$), достоверное снижение ADAMTS13:Аг ($0,34 \pm 0,07$ ЕД/мл ($p < 0,05$)). Рост концентрации VWF и отношения

VWF:Аг/ADAMTS13:Аг достоверно коррелировали с концентрацией комплексов ТАТ ($p < 0,05$). Достоверных динамических изменений концентрации маркеров нетоза, показателей функционирования оси ADAMTS13/VWF, маркеров активации гемостаза до и через 14 дней после оперативного лечения не выявлено, однако средние значения показателей имели тенденцию к снижению.

ГЛАВА 4. НАСЛЕДСТВЕННАЯ И ПРИОБРЕТЕННАЯ ТРОМБОФИЛИИ У ОНКОГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОК (РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В РЕТРОСПЕКТИВНОЙ ГРУППЕ)

С целью оценки вклада наследственной и приобретенной тромбофилии в развитие тромботических осложнений, прогрессию опухоли и метастазирование у онкогинекологических пациенток проведен анализ архивного материала 418 пациенток с новообразованиями женских половых органов и молочных желез, после ранее проведенной противоопухолевой терапией (химиотерапия и оперативное лечение). По результатам анализа данных историй болезни и амбулаторных карт, с учетом критериев включения и исключения, 207 пациенток были распределены по двум группам.

98 пациенток с тромботическими осложнениями в интервале до года после проведенной терапии по данным амбулаторных карт составили первую группу: рак тела матки – 23 пациентки, рак молочных желез – 18 пациенток, рак яичников – 46 пациенток, рак шейки матки (аденокарцинома цервикального канала) – 11 пациенток.

109 пациенток без тромботических осложнений составили вторую группу: рак тела матки – 33 пациентки, рак яичников – 31 пациентка, рак молочных желез – 35 пациенток, рак шейки матки (аденокарцинома цервикального канала) – 10 пациенток.

50 женщин без злокачественных новообразований составили контрольную группу.

В подгруппу пациенток ретроспективной группы с тромботическими осложнениями (n=98) вошли онкогинекологические пациентки, у которых в период от года до трех после начала противоопухолевой терапии (оперативного лечения или курсов химиотерапии) по данным амбулаторных карт, имеющихся в наличии, были отмечены эпизоды тромбозов. В структуре тромботических проявлений имели место: тромбоз глубоких вен нижних конечностей – у 19 (19,4%), у 21 (21,4%) – тромбоэмболия ветвей легочной артерии, у 15 (15,3%) – ишемический

инсульт, у 10 (10,2%) – транзиторные ишемические атаки, у 7 (7,2%) – тромбоз сосудов сетчатки, у 5 пациенток (5,1%) – острый инфаркт миокарда (Таблица 4.1.).

Таблица 4.1 – Виды и частота тромботических осложнений среди группы онкогинекологических пациенток с тромбозами в течение года от начала противоопухолевой терапии

Тромботические осложнения	n=98	
	n	%
Тромбоз эмболия ветвей легочной артерии	21	21,4
Тромбоз глубоких вен ног	19	19,4
Илеофemorальный тромбоз	11	11,2
Ишемический инсульт	15	15,3
Транзиторные ишемические атаки	10	10,2
Острый инфаркт миокарда	5	5,1
Тромбоз сосудов сетчатки	7	7,2

4.1 Частота выявления генетической тромбофилии у онкогинекологических пациенток с тромботическими осложнениями

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. Так, у онкологических пациенток без тромбоза гетерозиготная форма мутации встречалась с частотой 41 (37,6%), гомозиготная – 15 (13,8%), у пациенток с тромбозом гетерозиготная форма составила 37 (37,8%), гомозиготная – 17 (17,3%), в контрольной группе частота гетерозиготной формы составила 17 (34%), а гомозиготной – 6 (12%), при $p > 0,001$ (Таблицы 4.2–4.3).

Таблица 4.2 – 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		

Продолжение Таблицы 4.2

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 4.3 – 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

Для полиморфизма PAI-1 достоверных различий между группами выявлено не было. Полиморфизм PAI-1 4G/5G у пациенток без тромбозов в гомозиготном варианте 4G/4G был выявлен у 3 (2,8%), в гетерозиготном 4G>5G – у 15 (13,8%). У пациенток с тромбозами гомозиготная форма 4G/4G выявлена у 3 (3,1%),

гетерозиготная 4G>5G – у 16 (16,3%). В контрольной группе гомозиготная форма полиморфизма 4G/4G определялась у 2 (4%), гетерозиготная 4G>5G – у 7 (14%), при $p>0,001$.

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 1 (2%) ($p<0,001$). Мутация протромбина G20210A у пациенток без тромбозов в гомозиготной форме AA выявлена не была, в гетерозиготной GA выявлена у 7 (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%), $p<0,001$.

Дальнейший анализ проводился в отношении мутаций с достоверными отличиями. Среди пациенток с тромбозами достоверно чаще мутации протромбина и фактора V Лейден выявлялись при наличии отдаленных метастазов и на более поздних стадиях заболевания (Таблицы 4.4–4.5).

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 была одинаковой как у пациенток с отягощенным анамнезом, так и без него (Таблица 4.6).

Таблица 4.4 – Частота выявления наследственной тромбофилии у онкогинекологических пациенток с тромбозами (n=98) в зависимости от наличия отдаленных метастазов

	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

Примечание: уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток.

Таблица 4.5 – Частота выявления наследственной тромбофилии у онкогинекологических пациенток с тромбозами (n=98) в зависимости от стадии заболевания

	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
Примечание: уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток.							

Таблица 4.6 – Частота выявления наследственной тромбофилии у онкогинекологических пациенток с тромбозами (n=98) в зависимости от наличия отягощенного наследственного тромботического анамнеза

	Отягощенный наследственный тромботический 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
Примечание: уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток.					

4.2 Частота выявления антифосфолипидных антител у онкогинекологических пациенток с тромботическими осложнениями

Анализ циркуляции антифосфолипидных антител при однократном заборе крови по данным архивного материала показал достоверное повышение частоты циркуляции 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, антикардиолипиновых антител (суммарных IgG и IgM) и антител к бета-2-гликопротеину 1 (суммарных IgG и IgM). Наиболее часто отмечалась циркуляция волчаночного антикоагулянта 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%), $p < 0,001$ (Таблица 4.7).

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 4.7 – 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	%
Антикардиолипидные 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 волчаночного антикоагулянта	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

Как у онкологических пациенток с тромбозами, так и без тромбозов частота выявления АФА росла с увеличением стадии заболевания (Таблицы 4.8–4.9). Так, в подгруппе онкогинекологических пациенток с тромбозами (n=98) частота циркуляции АФА на 1 стадии составила 8 (28,6%), на 2 стадии – 16 (38,1%), на 3 стадии – 19 (67,9%), а в подгруппе пациенток без тромботических осложнений (n=109) частота циркуляции АФА на 1 стадии составила – 8 (19,0%), на 2 стадии – 11 (25,0%), на 3 стадии – 10 (43,5%), при $p < 0,001$.

Таблица 4.8 – Частота выявления антифосфолипидных антител у онкогинекологических пациенток с тромбозами (n=98) в зависимости от стадии заболевания

	Стадия I n=28		Стадия II n=42		Стадия III n=28		p
	n	%	n	%	n	%	
Антикардиолипиновые антитела (суммарные)	2	7,1	4	9,5	6	21,4	<0,001
Антитела к β 2-гликопротеину 1 (суммарные)	1	3,6	5	11,9	7	25	<0,001
Циркуляция волчаночного антикоагулянта	6	21,4	12	26,1	13	46,4	<0,001
Дабл-положительные	1	3,6	3	7,1	3	10,7	<0,001
Трипл-положительные			1	2,4	2	7,1	<0,001
АФА (всего)	8	28,6	16	38,1	19	67,9	<0,001

Примечание: уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток.

Таблица 4.9 – Частота выявления антифосфолипидных антител у онкогинекологических пациенток с тромбозами (n=98) в зависимости от наличия отдаленных метастазов

	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 β 2-гликопротеину 1 (суммарные)	7	41,2	6	7,4	<0,001
Циркуляция волчаночного антикоагулянта	10	58,8	21	25,9	<0,001
Дабл-положительные	4	23,5	3	3,7	<0,001
Трипл-положительные	1	5,9	2	2,4	<0,001
АФА (всего)	17	100,0	26	32,0	<0,001

Примечание: уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток.

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 4.10–4.11). Дабл- и трипл-положительные пациентки чаще выявлялись на более поздних стадиях, а также при наличии отдаленных метастазов по данным дообследования из медицинской документации.

Таблица 4.10 – 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 (суммарные)	1	2,4	3	6,8	3	13,0	<0,001
Антитела к β 2-гликопротеину 1 (суммарные)	2	4,8	2	4,5	4	17,4	=0,001
Циркуляция волчаночного антикоагулянта	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

Примечание: уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток.

Таблица 4.11 – 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 (суммарные)	2	13,3	5	5,3	<0,001
Антитела к β 2-гликопротеину 1 (суммарные)	2	13,3	6	6,4	<0,001
Циркуляция волчаночного антикоагулянта	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

Примечание: уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток.

4.3 Частота выявления гипергомоцистеинемии у онкогинекологических пациенток с тромботическими осложнениями

В исследовании проведена оценка концентрации гомоцистеина у онкогинекологических пациенток, распространенность среди них полиморфизмов генов фолатного цикла. Следующие лабораторные показатели базы данных ретроспективной группы пациенток были проанализированы: наличие или отсутствие мутации и полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла MTHFR

C677T, MTHFR A1298C, MTRR A66G, MTR A2756G и концентрация гомоцистеина плазмы крови. В норме концентрация гомоцистеина в плазме крови 5–15 $\mu\text{моль/л}$. Рост концентрации до 15–30 $\mu\text{моль/л}$ является легкой степенью гипергомоцистеинемии, 31–100 $\mu\text{моль/л}$ - средней степенью, более 100 $\mu\text{моль/л}$ - тяжелой. У онкогинекологических пациенток средняя концентрация гомоцистеина составила $23 \pm 20,19$ $\mu\text{моль/л}$, что превышало показатели контрольной группы $9 \pm 2,74$ $\mu\text{моль/л}$ ($p < 0,05$) с высокой степенью достоверности. Границей между группами в исследовании был выбран показатель 22 $\mu\text{моль/л}$ - среднее значение диапазона легкой степени гипергомоцистеинемии.

У всех пациенток проведен анализ частоты полиморфизмов и мутаций генов ферментов фолатного цикла MTR A2756G, MTRR A66G, MTHFR A1298C, MTHFR C677T. У онкологических пациенток и в контрольной группе достоверных различий в частоте выявлено не было ($p > 0,001$) (Таблицы 4.12–4.13).

Таблица 4.12 – У онкогинекологических пациенток без тромботических осложнений и в контрольной группе частота встречаемости полиморфизмов и мутаций генов ферментов фолатного цикла

	Пациентки без тромботических осложнений (n=109)								Контрольная группа (n=50)		p
	РЯ		РТМ		РМЖ		РШМ				
	n	%	N	%	n	%	n	%	n	%	
	31	28,4	33	30,3	35	32,1	10	9,2			
МУТАЦИЯ C677T											
CT	12	38,7	11	33,3	15	42,8	3	30	16	35	>0,001
TT	4	12,9	5	15,2	5	14,2	1	10	18,1	6	
ПОЛИМОРФИЗМ MTHFR A1298C											
AC	10	32,3	6	18,1	15	42,9	4	40	20	40	>0,001
CC	4	12,9	1	3,0	4	11,4	1	10	4	8	
ПОЛИМОРФИЗМ MTRR A66G											
AG	19	61,3	17	51,5	22	62,9	7	70	30	60	>0,001
GG	1	3,2	2	6,1	2	5,7	-	-	3	6	
ПОЛИМОРФИЗМ MTR A2756G											
AG	11	35,4	12	36,3	12	34,2	4	40	16	32	>0,001
GG	1	3,2	1	3,0	1	2,9	-	-	2	4	
Примечание: уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток и группы контроля.											

Таблица 4.13 – У онкогинекологических пациенток с тромботическими осложнениями и в контрольной группе частота встречаемости полиморфизмов и мутаций генов ферментов фолатного цикла

	Пациентки с тромботическими осложнениями (n=98)								Контрольная группа (n=50)		p
	РЯ		РТМ		РМЖ		РШМ				
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
	46	46,9	23	23,5	18	18,4	11	11,2			
МУТАЦИЯ С677Т											
СТ	16	34,8	4	17,4	1	5,6	2	18,1	16	35	>0,001
ТТ	10	8	17,4	4	17,4	3	16,7	2	18,1	6	
ПОЛИМОРФИЗМ МТНFR A1298С											
АС	14	30,4	5	21,7	7	38,9	4	36,4	20	40	>0,001
СС	6	13,0	2	8,7	2	11,1	1	9,1	4	8	
ПОЛИМОРФИЗМ МТRR A66G											
AG	29	63,0	13	56,5	12	66,7	6	54,5	30	60	>0,001
GG	2	4,3	1	4,3	1	5,6	-	-	3	6	
ПОЛИМОРФИЗМ МTR A2756G											
AG	11	35,4	12	36,3	12	34,2	4	40	16	32	>0,001
GG	1	3,2	1	3,0	1	2,9	-	-	2	4	
Примечание: уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток и группы контроля.											

У пациенток с тромботическими осложнениями в 65,3% случаев концентрация гомоцистеина превышала 22 μ моль/л (по сравнению с 22,9% в группе без тромботических осложнений и 12% в контрольной группе, $p < 0,001$). Результаты показали, что риск тромботических осложнений у пациенток с концентрацией гомоцистеина ≥ 22 μ моль/л выше, чем у пациенток с концентрацией гомоцистеина в плазме крови менее 22 μ моль/л (Таблицы 4.14–4.15).

Таблица 4.14 – Концентрация гомоцистеина у пациенток без тромботических осложнений

	Пациентки без тромботических осложнений (n=109)								Контрольная группа (n=50)		p
	РЯ		РТМ		РМЖ		РШМ				
	n	%	N	%	n	%	n	%	n	%	
	31	28,4	33	30,3	35	32,1	10	9,2			
Концентрация гомоцистеина (μ моль/л)											
<22	24	77,5	25	75,8	27	77,1	8	80	44	88	<0,001
n=84 (77,01%)											
≥ 22	7	22,6	8	24,2	8	22,9	2	20	6	12	<0,001
n=25 (22,9%)											
Примечание: уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток и группы контроля.											

Таблица 4.15 – Концентрация гомоцистеина у пациенток с тромботическими осложнениями

	Пациентки с тромботическими осложнениями (n=98)								Контрольная группа (n=50)		p
	РЯ		РТМ		РМЖ		РШМ				
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
	46	46,9	23	23,5	18	18,4	11	11,2			
Концентрация гомоцистеина (μмоль/л)											
<22	15	32,6	8	34,7	7	38,9	4	36,4	44	88	<0,001
	n=34 (34,7%)										
≥22	31	67,4	15	65,2	11	61,1	7	63,6	6	12	<0,001
	n= 64 (65,3%)										
Примечание: уровень p рассчитан при сравнении группы контроля и групп онкогинекологических пациенток.											

Было показано при проведении логистического регрессионного анализа, что у пациенток с концентрацией гомоцистеина в плазме крови ≥ 22 μмоль/л риск венозной тромбозной эмболии выше в 2,99 раза по сравнению с пациентками с концентрацией гомоцистеина < 22 μмоль/л (95% ДИ: 1,11-8,08) (Таблица 4.16).

Таблица 4.16 – Результаты логистического регрессионного анализа у онкологических пациенток с тромботическими осложнениями

Показатель	OR (95%CI)	aOR (95%CI)
Концентрация гомоцистеина (μмоль/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.		

При этом средние показатели концентрации гомоцистеина в плазме крови у онкологических пациенток с выявленными полиморфизмами генов ферментов фолатного цикла оказались достоверно выше, чем в группе контроля ($p < 0,001$) (Таблица 4.17).

Анализ результатов исследования в ретроспективной группе выявил достоверные различия между группами с тромботическими осложнениями и без для мутации V Лейден и мутации протромбина. Мутация V Лейден G1691A у онкологических пациенток без тромбозов определялась в гетерозиготной форме у 5 пациенток (4,6%), с тромбозами гомозиготный вариант AA выявлен у 2 (2,0%),

гетерозиготный GA – у 9 (9,2%) (в контрольной группе гетерозиготная форма – 1 (2%) ($p < 0,001$)).

Таблица 4.17 – Концентрация гомоцистеина у пациенток с выявленными полиморфизмами генов ферментов фолатного цикла

Показатель	Концентрация гомоцистеина $\mu\text{моль/л}$, $M \pm SD$		p
	Группа онкологических пациенток (n=207)	Контрольная группа (n=50)	
MTRR A66G			<0,05
AA	15,52 \pm 5,69	10,88 \pm 2,67	
AG	17,83 \pm 10,99	12,67 \pm 5,13	
GG	23,70 \pm 23,51	18,15 \pm 10,48	
MTHFR A1298C			<0,05
AA	13,47 \pm 6,47	10,12 \pm 2,17	
AC	18,92 \pm 12,29	12,67 \pm 5,44	
CC	22,64 \pm 20,39	19,25 \pm 10,52	
MTR A2756G			<0,05
AA	12,23 \pm 5,16	10,71 \pm 3,30	
AG	20,43 \pm 15,32	13,39 \pm 7,91	
GG	21,15 \pm 23,30	19,97 \pm 12,88	
MTHFR C677T			<0,05
CC	14,43 \pm 6,13	10,55 \pm 2,98	
CT	19,51 \pm 10,72	13,01 \pm 6,63	
TT	22,38 \pm 21,50	20,85 \pm 11,76	
Примечание: уровень p рассчитан при сравнении групп онкогинекологических пациенток и группы контроля.			

Мутация протромбина G20210A у семи пациенток без тромбозов выявлена в гетерозиготной GA форме (6,4%), с тромбозами гомозиготный вариант AA – у 2 (2,0%), гетерозиготный GA – у 23 (23,5%) (в контрольной группе у одной гетерозиготная форма GA – 1 (2%), $p < 0,001$). При этом среди пациенток с тромбозами достоверно чаще мутации протромбина и фактора V Лейден выявлялись при наличии отдаленных метастазов и на более поздних стадиях заболевания ($p \leq 0,001$). Частота мутаций протромбина и фактора V Лейден у онкологических пациенток с развившимися впоследствии тромбозами была одинаковой как у пациенток с отягощенным анамнезом, так и без него ($p > 0,001$), что говорит о наличии дополнительных эпигенетических причин для реализации протромбогенного потенциала при наличии генетической предрасположенности.

Исследование в ретроспективной группе не выявило различий в частоте встречаемости мутации MTHFR C677T и полиморфизма PAI-1 в группах пациенток с тромботическими осложнениями и без.

У онкогинекологических пациенток ретроспективной группы с тромбозами и без было выявлено достоверное повышение частоты циркуляции АФА у 72 (34,7%) (в контрольной группе (n=50) – у 4 (8%), при $p<0,001$). Частота выявления антифосфолипидных антител в подгруппе с тромбозами оказалась достоверно выше – 43 (43,9%), чем без тромбозов – 29 (26,6%), $p<0,001$. В обеих подгруппах частота выявления АФА росла с увеличением стадии заболевания, что дает возможность рассматривать АФА как часть патогенеза онкологического процесса. В подгруппе с тромбозами (n=98) частота циркуляции АФА на 1 стадии составила 8 (28,6%), на 2 стадии – 16 (38,1%), на 3 стадии – 19 (67,9%), а в подгруппе без тромботических осложнений (n=109) частота циркуляции АФА на 1 стадии составила 8 (19,0%), на 2 стадии – 11 (25,0%), на 3 стадии – 10 (43,5%), при $p<0,001$. АФА выявлялись чаще у пациенток с отдаленными метастазами в обеих подгруппах.

Средняя концентрация гомоцистеина у онкогинекологических пациенток составила $23\pm 20,19$ $\mu\text{моль/л}$, что достоверно превышало показатели контрольной группы $9\pm 2,74$ $\mu\text{моль/л}$ ($p<0,05$). Достоверных различий в частоте у онкологических пациенток и в контрольной группе при анализе генов ферментов фолатного цикла MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTRR A66G, MTR A2756G выявлено не было ($p>0,001$). У онкогинекологических пациенток с выявленными полиморфизмами генов ферментов фолатного цикла при этом средние показатели концентрации гомоцистеина были достоверно выше в плазме крови, чем в группе контроля ($p<0,001$). 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 показано, что риск венозной тромбоэмболии у пациенток с концентрацией гомоцистеина в плазме

крови ≥ 22 $\mu\text{моль/л}$ в 2,99 раза выше по сравнению с пациентками с концентрацией гомоцистеина <22 $\mu\text{моль/л}$ (95% ДИ: 1,11-8.08).

ГЛАВА 5. КОНЦЕПЦИЯ ТРОМБОВОСПАЛЕНИЯ КАК ОСНОВЫ ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ, ПРОГРЕССИИ ОПУХОЛИ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ У ОНКОГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОК (ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ)

Лидирующее место в структуре смертности и заболеваемости в развитых странах занимают сердечно-сосудистые заболевания, за ними следуют злокачественные заболевания. О тесной связи между раком и тромбозом известно в течение почти 150 лет, и с каждым годом публикуются новые данные, выявляющие новые механизмы взаимосвязи. Последние 20 лет большое внимание международного сообщества обращено на проблему рак-ассоциированных тромбозов. Идет активное изучение их механизмов, биомаркеров, создаются все новые шкалы оценки риска рак-ассоциированного тромбоза, поиск новых терапевтических мишеней. Тромбоэмболические осложнения всегда сопутствуют раку и являются второй по частоте причине смертности у онкологических пациентов. Кроме непосредственного патологического действия на организм, рак-ассоциированный тромбоз мешает проведению адекватной противоопухолевой терапии. Находясь длительно после эпизода тромбоза на антикоагулянтной терапии, пациент не может быть подвергнут зачастую оперативному вмешательству ввиду высокого риска, ему также нет возможности назначить ряд эффективных средств химиотерапии с выраженным прокоагулянтным эффектом. Кроме того, длительный прием антикоагулянтов повышает риск развития кровотечений у онкологических больных. Так, одобренные для использования у пациентов с рак-ассоциированным тромбозом оральные антикоагулянты, ингибиторы Ха-фактора показали, с одной стороны, свою эффективность, возможность их использования в качестве альтернативы парентеральному введению низкомолекулярного гепарина, с другой стороны, их использование сопровождается повышенным риском кровотечения, особенно при ряде опухолей, а также взаимодействием с противоопухолевыми средствами.

Традиционно рак-ассоциированный тромбоз рассматривали лишь с позиции венозной тромбоэмболии, однако в последние годы было показано, что у онкологических пациентов также повышен риск развития артериальных тромбозов. В настоящее время тема артериальных тромбозов у онкологических пациентов является перспективной к разработке с позиций уточнения механизмов развития и факторов риска.

В классическом понимании повышенный риск тромбоза, наблюдаемый у онкогинекологических пациенток, можно объяснить способностью рака воздействовать на все компоненты триады Вирхова (гиперкоагуляция, стаз и дисфункция эндотелия). Однако, благодаря накопленным данным, патогенез тромбоза при раке также может быть описан и другой триадой, состоящей из биологии опухоли, активации свертывания и воспаления. Рак является независимым предиктором тромбоза. Опухолевые клетки в процессе канцерогенеза экспрессируют ряд воспалительных цитокинов, проангиогенных и прокоагулянтных факторов, а также стимулируют стромальные клетки к экспрессии этих протромботических компонентов, способствуя тромбообразованию. Тромбоэмболические осложнения у онкогинекологических пациенток имеют как клинические, так и экономические последствия, включая госпитализацию, возможные задержки в проведении терапии, посттромботический синдром и хроническую тромбоэмболическую легочную гипертензию и т.д.

Высокая доля тромбоза в структуре смертности онкологических пациентов дает возможность говорить о злокачественных заболеваниях как о протромботических. Даже при отсутствии рак-ассоциированного тромбоза (тромбоза, возникающего за шесть месяцев до или через два года после установления диагноза) у большинства онкогинекологических пациенток на разных этапах наблюдается системная гиперкоагуляция. К сожалению, частота рак-ассоциированных тромбозов в последние годы постепенно увеличивается, что связано с широким использованием новых противоопухолевых методов лечения (например, антиангиогенной терапии) и качества визуализационной диагностики ВТЭ.

Рак-ассоциированный тромбоз, также известный как синдром Труссо, был впервые описан Жаном-Батистом и Арманом Труссо в XIX веке. Много лет прошло с тех пор, однако основные биологические механизмы, связывающие опухоль с тромбообразованием до сих пор недостаточно изучены. В настоящее время очевидно, что нарушение регуляции системы гемостаза у онкологических пациентов не только приводит к тромбообразованию, но и способствует росту и диссеминации опухоли [367].

Учитывая тромбогенные свойства опухолевой ткани все онкогинекологические пациентки должны получать тромбопрофилактику. В настоящее время, согласно рекомендациям Европейского общества медицинской онкологии (ESMO) и Американского общества клинической онкологии (ASCO), рутинная тромбопрофилактика не рекомендуется амбулаторным пациентам, особенно тем, которые проходят адъювантную химиотерапию и/или гормональную терапию, из-за повышенного риска кровотечения и возможных лекарственных взаимодействий [368, 369]. Лечение ВТЭ в условиях злокачественного процесса является сложной задачей, поскольку трудно достичь баланса между эффективностью и безопасностью антитромботической терапии, что приводит к более высокой частоте рецидивов ВТЭ или кровотечений у онкогинекологических пациенток по сравнению с общей популяцией. Это подчеркивает важность поиска надежных прогностических биомаркеров рак-ассоциированного тромбоза для персонализированной тромбопрофилактики, а также поиска новых стратегий в тромбопрофилактике.

Исследования в общей популяции показали, что тромбоз зачастую имеет наследственную предрасположенность, а следовательно, генетические маркеры являются возможными кандидатами в предикторы рак-ассоциированного тромбоза. Учитывая роль системы гемостаза и в канцерогенезе, эти генетические маркеры могут также быть потенциальными предикторами предрасположенности к развитию опухолей и неблагоприятному течению онкологических заболеваний [370].

С точки зрения этиологии рак-ассоциированный тромбоз является результатом сложного взаимодействия между приобретенными и генетическими факторами, которые вместе нарушают баланс гемостаза в сторону тромбоза. Приобретенные факторы риска хорошо известны. Это и пациент-ассоциированные факторы (возраст и иммобилизация), характеристики опухоли (локализация, размер, гистотип) и методы лечения (хирургическое вмешательство и химиотерапия). Однако у многих пациенток тромботические эпизоды генетически детерминированы.

Анализ генетических полиморфизмов рак-ассоциированного тромбоза имеет противоречивые результаты, которые можно объяснить несколькими причинами. Существуют различия в характеристиках популяции и распространенности полиморфизмов в зависимости от этнической принадлежности, различия в дизайне исследований, различия в характеристиках исследуемых опухолей, так как разные опухоли связаны с разным риском ВТЭ и тромботогенетическими механизмами. Кроме того, в развитии ВТЭ играют большую роль и другие изучаемые процессы. Таким образом, в условиях опухолевого роста маловероятно, что генетический полиморфизм или мутация играют ведущую роль. Прогнозирование рисков тромбоза у онкологических пациентов должно состоять в оценке системы гемостаза и в выявлении генетической и приобретенной тромбофилии, но и других факторов, в частности участия реакций тромбовоспаления, как показали последние исследования.

5.1 Тромбовоспаление как звено патогенеза прогрессии опухоли, метастазирования и тромботических осложнений у онкогинекологических пациенток

Значительную часть опухолевого микроокружения составляют иммунные клетки хозяина, среди которых наиболее многочисленной группой являются нейтрофилы. Полиморфно-ядерные нейтрофилы – самый распространенный тип лейкоцитов. Они уничтожают патогены или другие эндогенные, или экзогенные

факторы, используя комбинацию механизмов, включая фагоцитоз, окислительный взрыв, выброс антимикробных субстанций и производство нейтрофильных внеклеточных ловушек. Последние, как оказалось, играют огромную роль в процессах тромбовоспаления, приводя к дисрегуляции всех звеньев системы гемостаза. Среди многих компонентов микроокружения опухоли, нейтрофилы и их продукты играют все более заметную роль в прогрессии опухоли, уклонении от иммунного надзора и метастазировании.

Внеклеточные ловушки нейтрофилов являются основными игроками на поле тромбовоспаления. Внеклеточные ловушки представляют собой сети из белков, гистонов и ДНК, продуцируемых активированными нейтрофилами. NETs принимают активное участие в запуске иммунного ответа нейтрофилов, в патогенезе аутоиммунных заболеваний (ревматоидный артрит, системная красная волчанка, псориаз) и в патогенезе онкологических заболеваний, васкулитов, тромбозов и атеросклероза [92]. Среди лейкоцитов нейтрофилы являются наиболее многочисленными клетками. Свое название они получили в связи с отсутствием окрашивания при проведении лабораторной диагностики. За счет дольчатой структуры ядра их также называют полиморфно-ядерными. Считается, что нейтрофилы являются главными клетками противомикробной защиты за счет мощного антимикробного арсенала гранул. Недавние исследования показали, что нейтрофилы обладают нейтрофильными адаптивными (подобными памяти) реакциями. Например, использование БЦЖ (*Bacillus Calmette-Guerrin* (BCG)) способствует развитию адаптивного ответа нативных нейтрофилов [371], что приводит к перепрограммированию транскриптома нейтрофилов и эпигенетическим модификациям, и высвобождению провоспалительных медиаторов. В результате (при повторной стимуляции нейтрофилов) они быстро привлекаются и активируются с более интенсивной иммунной реакцией.

Поскольку компоненты NETs неспецифичны, чрезмерная активация нетоза может способствовать воспалению и повреждению тканей. Избыточная активация нейтрофилов с выработкой внеклеточных ловушек нейтрофилов способствует острому повреждению ткани, микротромбообразованию и кровоизлияниям [372].

При этом у обследованных пациенток отмечалась неоднородность в концентрации маркеров нетоза. Максимальные концентрации отмечались в подгруппе «рак тела матки» (аденокарцинома) и «аденокарцинома цервикального канала». Вероятнее всего, различные опухоли в различной степени способны стимулировать нетоз [129].

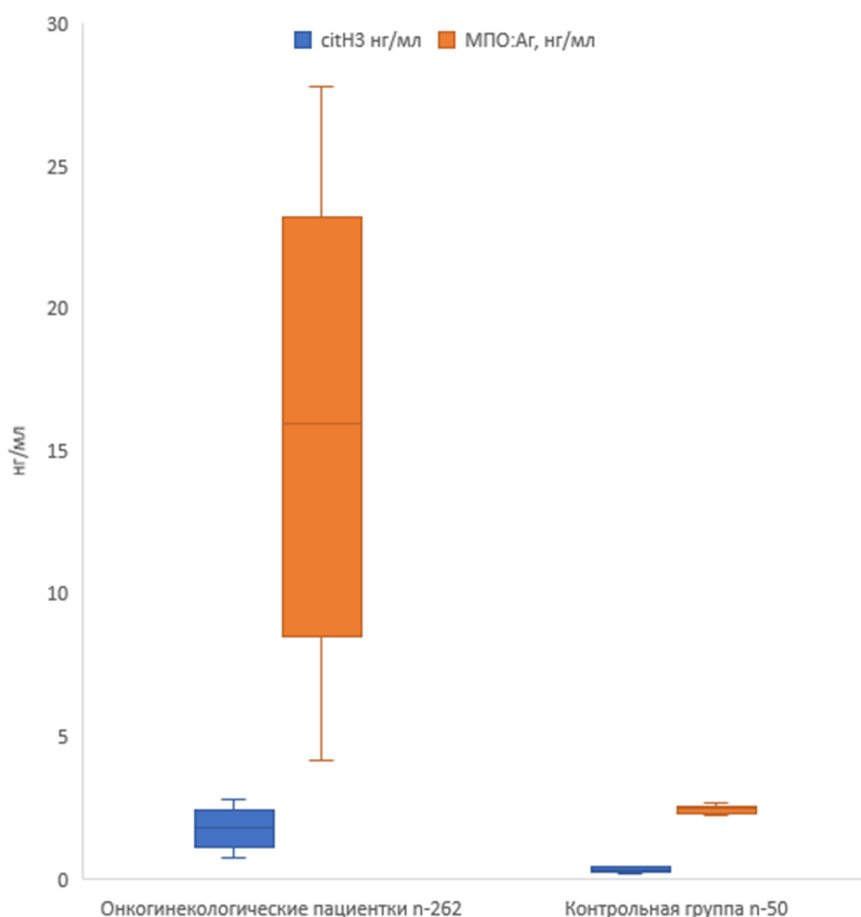


Рисунок 5.2 – Концентрация MPO:Ag и CitH3 у онкогинекологических пациенток в основной и контрольной группах

Продукция провоспалительных цитокинов опухолевыми клетками способствует поддержанию прокоагулянтного состояния, запуская клеточную адгезию и активацию клеток эндотелия. Концентрации интерлейкинов значительно повышены у онкологических больных и особенно у пациентов с венозными тромбозами. В участок воспаления при участии хемокинов, селектинов, включая P-селектин, нейтрофилы привлекаются в несколько этапов: активация, адгезия и

экстравазация. Все это происходит [186]. Различные агенты и провоспалительные медиаторы вызывают нетоз. К ним относятся обильно продуцируемые в микроокружении опухолевой ткани хемокины. По результатам опубликованных исследований, интерлейкины, в частности интерлейкин-8 при индукции его сверхэкспрессии на фоне немелкоклеточного рака легкого, напрямую влиял на интенсивность нетоза [376, 377]. NETs активируют синтез цитокинов в таких клетках, как макрофаги [378]. Различные интерлейкины, с другой стороны, принимают участие в нетозе. ИЛ-1 β , как показали исследования, локализуется рядом с NETs в аневризмах брюшной аорты человека. ИЛ-1 β стимулирует нетоз, что специфически подавляется влиянием ИЛ-1 RA, как показали исследования *in vitro* [379].

В проведенном исследовании нами была оценена концентрация ИЛ-8 у онкогинекологических пациенток и ее корреляция с концентрациями маркеров нетоза. ИЛ-8 является хемокином или многофункциональным воспалительным медиатором. Его синтезируют эндотелиальные клетки, эпителиальные клетки и макрофаги, содержащие toll-подобные рецепторы [380]. Ориентация нейтрофилов к инфицированным участкам обеспечивается хемотаткисом ИЛ-8. Рост концентрации ИЛ-8 стимулируют опухолевые клетки при колоректальном раке, гепатоцеллюлярной карциноме, карциноме носоглотки и опухолях предстательной железы [381]. Во процессе или после паклитаксел содержащей химиотерапии концентрация ИЛ-8 в плазме крови пациенток с опухолями яичников значительно снижена, что свидетельствует о многообещающих перспективах ИЛ-8 как маркера эффективности противоопухолевой терапии. На мембране нейтрофилов ИЛ-8 для доставки нейтрофилов к опухолям связывается с рецепторами ИЛ-8-R1/2 [382, 383]. ИЛ-8, активируя передачу сигналов Src, ERK и p38, может стимулировать нетоз [384].

Высокие концентрации ИЛ-8 в плазме крови у онкологических пациентов уже описаны в исследованиях [385]. Более злокачественный фенотип опухоли с худшим прогнозом выявлен при сверхпродукции ИЛ-8 опухолевыми клетками [386]. ИЛ-8 способствует неоангиогенезу, росту опухоли, инвазии и

метастатическому распространению ее [387]. В условиях опухолевого роста и воспаления, и он запускает миграцию нейтрофилов. Увеличивает концентрацию гранулоцитарных супрессорных клеток миелоидного происхождения Gr-MDSC (Gr-MDSC granulocytic myeloid-derived suppressor cells) гиперпродукция ИЛ-8. ИЛ-8 является мощным индуктором нетоза и ключевым фактором проонкогенных эффектов NETs, в связи с чем он был включен в исследуемые показатели в нашем исследовании. Результаты проведенного нами исследования демонстрируют корреляционную зависимость между концентрацией ИЛ-8 и концентрацией маркеров нетоза. На фоне активного нетоза были отмечены повышенные концентрации ИЛ-8 в плазме крови. У пациенток на поздних стадиях заболевания оба этих процесса были более выражены. Возможно предположить, что ИЛ-8 создает благоприятные условия для прогрессии опухоли и метастазирования, стимулируя нейтрофилы к нетозу.

Концентрация интерлейкина-8 в нашем исследовании была значительно повышена по сравнению с контрольной группой ($12,78 \pm 5,58$ пг/мл) среди онкогинекологических пациенток ($71,3 \pm 25,57$ пг/мл). Корреляционный анализ выявил достоверные зависимости между концентрацией интерлейкина-8 и маркерами нетоза (citH3 и MPO:Ag).

Концентрация ИЛ-8 и маркеров нетоза у онкологических пациенток были повышены, при этом со стадией заболевания коррелировала степень этого повышения. В основе данной зависимости лежит захват опухолевых клеток сетями, защита их от иммунного контроля, последующая активация опухолевой экспрессии ИЛ-8 и дальнейшим привлечением большего количества нейтрофилов, и активацией нетоза (Рисунок 5.3).

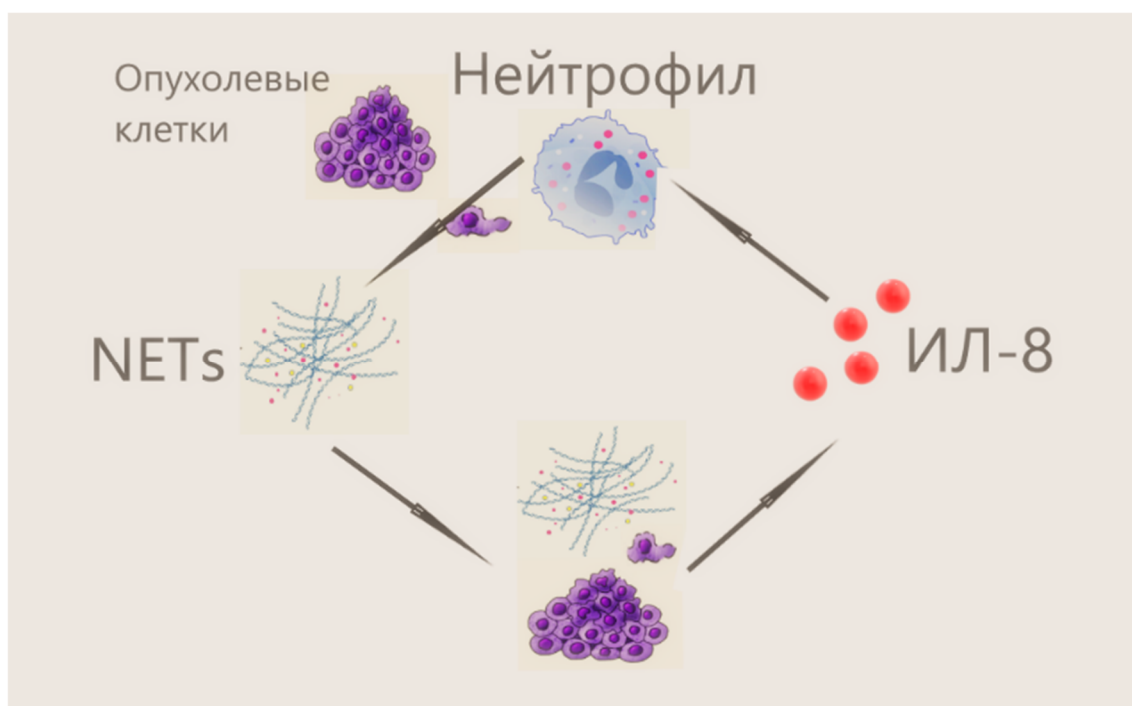


Рисунок 5.3 – Возможный механизм взаимодействия опухолевых клеток, нейтрофилов, ИЛ-8 и NETs [388]

Белковыми компонентами NETs являются гистоны, обладающие цитотоксическим действием. Нарушают целостность и разрушают внеклеточный матрикс сети хроматина из NETs. Вызванная влиянием NETs эндотелиальная дисфункция, всегда сопровождается воспалительным процессом. Нарушенная утилизация или гиперпродукция NETs приводит к тромбозу в микрососудистом русле. Деградация NETs и массивное высвобождение гистонов из связи с ДНК происходит под влиянием эндогенных и экзогенных ДНКаз приводя к тромбозам [389]. И венозные и артериальные тромбы, как показали исследования, содержат NETs и нейтрофилы [390]. В тромбах, особенно на стадии организации, всегда присутствуют NETs [186].

Нарушают фибринолиз и работу антикоагулянтов, а также активируют прокоагулянтное звено NETs различными путями [391]. По внутреннему пути свертывания запускает коагуляционный каскад ДНК NETs, так как повышают активацию фактора XII (FXII) – инициатора этого пути отрицательно заряженные поверхности [392]. ДНК NETs способствует успешному протеканию реакций внешнего пути, связанного с тканевым фактором, выступает в качестве кофактора

для тромбин зависимой активации фактора XI [393] [394]. Нетоз стимулирует и выделение H_2O , которое происходит в процессе активации эндотелия и его гибели [395], под цитотоксическим действием гистонов [396]. Тельца Вайбеля-Паладе, находящиеся в эндотелии, подвергаются экзоцитозу совместно с фактором Виллебранда, который поддерживает тромбоз связываясь с тромбоцитами. Через toll-подобные рецепторы TLR2 и TLR4 гистоны активируют тромбоциты [397] и усиливают их тромбин-зависимую активацию [398]. Связываясь с протромбином гистон H4 активирует его [399]. Гистоны препятствуют взаимодействию тромбин-тромбомодулин и нарушают антитромбин-зависимую инактивацию тромбина [400, 401]. Гистоны NETs запускают пути инактивации активированного протеина С (APC). Эластаза и оксидаза нейтрофилов инактивируют APC [186] - естественный антикоагулянт, подавляющий NETоз через PAR рецепторы нейтрофилов [402].

Гистоны с одной стороны активируют гемостаз, с другой стабилизируют тромб, делая его устойчивее фибринолизу, усиливая структурные изменения в фибрине. Гистоны подавляют плазмин, выступая как конкурентные субстраты и активируют плазминоген. Катализируемое активированной трансклутаминазой и фактором свертывания XIIIa ковалентное связывание гистонов с фибрином также защищает фибрин от действия плазминогена. Гистон-ассоциированная латеральная агрегация протофибрилл фибрина происходит путем нековалентных взаимодействий и приводит к утолщению нитей фибрина и затруднению процессов фибринолиза. Плазмин представляет собой сериновую протеазу, которая связывается с лизином и аргинином. Гистоны препятствуют работе плазмину и фибринолизу, запускаемому tPA, конкурируя с фибрином за участки связывания с плазмином. ДНК NETs усиливает образование комплексов ингибиторов активатора плазминогена-1 с тканевым активатором плазминогена [403], под действием tPA на поверхности тромба снижает интенсивность синтеза из плазминогена плазмину [400], уменьшает выделение белков, ответственных за деградацию фибрина фибриновыми тромбами и связывает их [404], а также блокирует плазмин-опосредованный лизис тромба проникая в нити фибрина. Таким образом,

повышенная концентрация в плазме крови при онкологических заболеваниях и других состояниях NETs, приводит к полной дисрегуляции системы гемостаза.

В проведенном нами исследовании одновременно с оценкой концентрации интерлейкина-8 и концентрации маркеров нетоза были оценены концентрации маркеры активации системы гемостаза (комплексов тромбин-антитромбин (ТАТ) и Д-димера). У всех онкологических пациенток по сравнению с контрольной группой концентрации маркеров активации гемостаза были достоверно повышены. Степень повышения напрямую зависела от стадии заболевания. Во всех подгруппах основной группы онкогинекологических пациенток была отмечена прямая зависимость от стадии заболевания и у показателей концентраций интерлейкина-8 и маркеров нетоза (Рисунок 5.4) [186].

При проведении корреляционного анализа выявлена достоверная корреляция между повышением концентрации комплексов тромбин-антитромбин и концентрации citH3 и МРО:Аг. 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.

Воспаление вызывает прогрессию большинства видов рака [405]. Воспаление принимает участие в канцерогенезе, росте опухоли и метастазировании, подавляет противоопухолевые иммунные реакции, что в целом приводит к росту рецидивов [406]. В ранее проведенных исследованиях при раке пищевода было показано, что отношение нейтрофилов к лимфоцитам и тромбоцитов к лимфоцитам (провоспалительные индексы) являются маркерами прогноза течения заболевания и эффективности химиотерапии [407, 408]. Прогностическая роль выявлена для количества лимфоцитов при опухолях матки [409]. Опубликованы исследования, которые посвящены изучению влияния количества лейкоцитов до начала терапии на прогноз при раке тела матки, желудка и колоректальном раке [410-412]. Рост количества провоспалительных агентов расценивают как маркер эффективности химиотерапии [412]. У пациенток при раке яичников после проведения курсов химиотерапии на основе паклитаксела и карбоплатина с исходно высоким

количеством лейкоцитов отмечены неудовлетворительные показатели общей и безрецидивной выживаемости. В последние годы все большее число исследований демонстрируют роль NETs в прогрессии опухоли и метастазировании [121, 413].

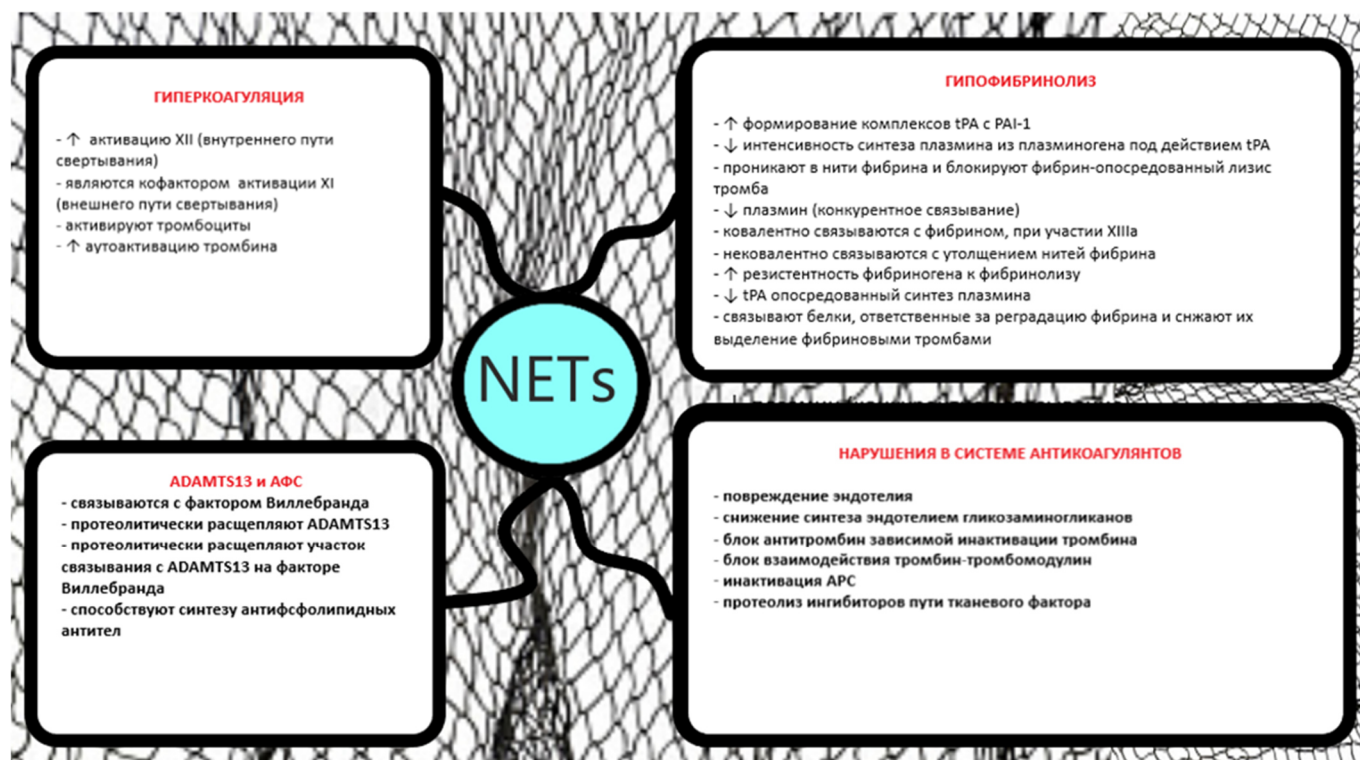


Рисунок 5.4 – NETs и тотальная дисрегуляция системы гемостаза [374]

В проведенном исследовании до старта терапии у онкогинекологических пациенток были отмечены по сравнению с контрольной группой достоверно повышенные концентрации маркеров нетоза (MPO:Ag и CitH3). У пациенток с количеством лейкоцитов до начала терапии в плазме крови более $7 \times 10^9/\text{л}$ концентрация MPO:Ag была значительно выше, чем при количестве лейкоцитов менее $7 \times 10^9/\text{л}$. Показатель количество лейкоцитов $> 7 \times 10^9/\text{л}$ также коррелировал до начала терапии со стадией TNM. В подтверждение того факта, что NETs принимают участие в прогрессии опухоли, можно привести и то, что в проведенном исследовании выявлены достоверные различия в концентрации citH3 гистона среди пациенток с на стадии I и на стадиях II–III во всех подгруппах онкогинекологических пациенток [129].

По-новому нам удалось взглянуть и на приобретенную тромбофилию у онкогинекологических пациенток. Так, в частности, выявить взаимосвязи между циркуляцией антифосфолипидных антител и процессами тромбовоспаления. В проведенном нами исследовании было показано, что достоверно чаще по сравнению с контрольной группой у пациенток подгруппы «рак яичников» выявлена циркуляция антител анти- $\beta 2$ -GPI. Достоверная корреляционная зависимость между концентрацией маркера нетоза МРО:АГ и анти- $\beta 2$ -GPI также выявлена в этой группе.

Из данных литературы известно, что анти- $\beta 2$ -GPI усиливают тромбоз и запускают нетоз. Нетоз является при антифосфолипидном синдроме новым патогенетическим механизмом тромбоза [414]. Изолированные у пациентов с АФС нейтрофилы усиливали спонтанное высвобождение NETs, что подтверждает гипотезу о том, что АФА активируют нейтрофилы для последующего нетоза. Ранее выявлена положительная корреляция между циркулирующими *in vivo* комплексами МПО-ДНК и IgG анти- $\beta 2$ -GPI, ВА, IgG АКЛ. B2GP1 был обнаружен на поверхности нейтрофилов, что объясняет связывание нейтрофилов с анти- $\beta 2$ -GPI и последующий нетоз. Для АФА опосредованного нетоза, как оказалось, требовалось как вовлечение TLR4, так и образование ROS. РМА-стимулированный нетоз, напротив, был TLR4-независимым. TLR4 можно рассматривать как возможный медиатор АФА, согласно этим данным, в процессе стимуляции нейтрофилов.

Иммунной системой молекулы, высвобождаемые при нетозе (гистоны, ДНК, цитокины, и т.д.), могут запускать аутоиммунный ответ, распознаваясь как аутоантигены. На этом фоне идет формирование порочного круга аутоиммунных реакций, способствующего дальнейшему высвобождению антигенов [128].

В проведенном нами исследовании частота обнаружения у пациенток в подгруппе «рак яичников» анти- $\beta 2$ -GPI по сравнению с контрольной группой была достоверно выше. В этой подгруппе пациенток выявлена корреляционная зависимость между частотой циркуляции анти- $\beta 2$ -GPI и концентрацией маркеров нетоза, что подтверждает возможную патогенетическую роль АФА в NETs-

опосредованном протромботическом состоянии и прогрессии рака яичников на фоне циркуляции АФА. В других подгруппах пациенток отсутствие подобной динамики могло быть связано как с отсутствием возможности оценить весь спектр антифосфолипидных антител («критериальных» и «некритериальных»), так и с небольшой выборкой пациенток.

Можно предположить на основании полученных данных, что одним из триггеров NETоза, формирующиеся у онкологических пациентов, являются антифосфолипидные антитела. Сам по себе NETоз стимулирует дальнейший синтез антифосфолипидных антител и вносит вклад в развитие тромботических событий. Эти два процесса, далее, способствуют созданию протромботического состояния у онкогинекологических пациенток взаимно усиливая друг друга (Рисунок 5.5).

Патогенетически обоснованной терапии АФС до настоящего времени не разработано. Современные методы лечения сфокусированы на профилактике тромбоза с помощью приема антикоагулянтов длительно. Изучение маркеров NETоза может быть эффективным в выработке стратегии при раке по предотвращению тромбоза. Влияние на интенсивность процессов NETоза, возможно, обеспечит эффективный сдвиг в терапии АФС.

Основным предметом споров среди исследователей является вопрос о том, дают ли показатели концентрации и активности ADAMTS13, отношение ADAMTS13/VWF или VWF/ADAMTS13 дополнительную клиническую информацию при ведении пациентов. ADAMTS13 является основным фактором, определяющим количество мультимеров фактора Виллебранда. Смертность пациентов с высокой концентрацией VWF и одновременно низкой или средней концентрацией ADAMTS13 более чем в четыре раза выше по сравнению с пациентами с высокой концентрацией ADAMTS13 и одновременно низкими концентрациями VWF. В литературе часто описывают низкие концентрации металлопротеиназы ADAMTS13 и высокие концентрации фактора фон Виллебранда у онкологических пациентов и значений этих показателей от стадии заболевания [416-418].

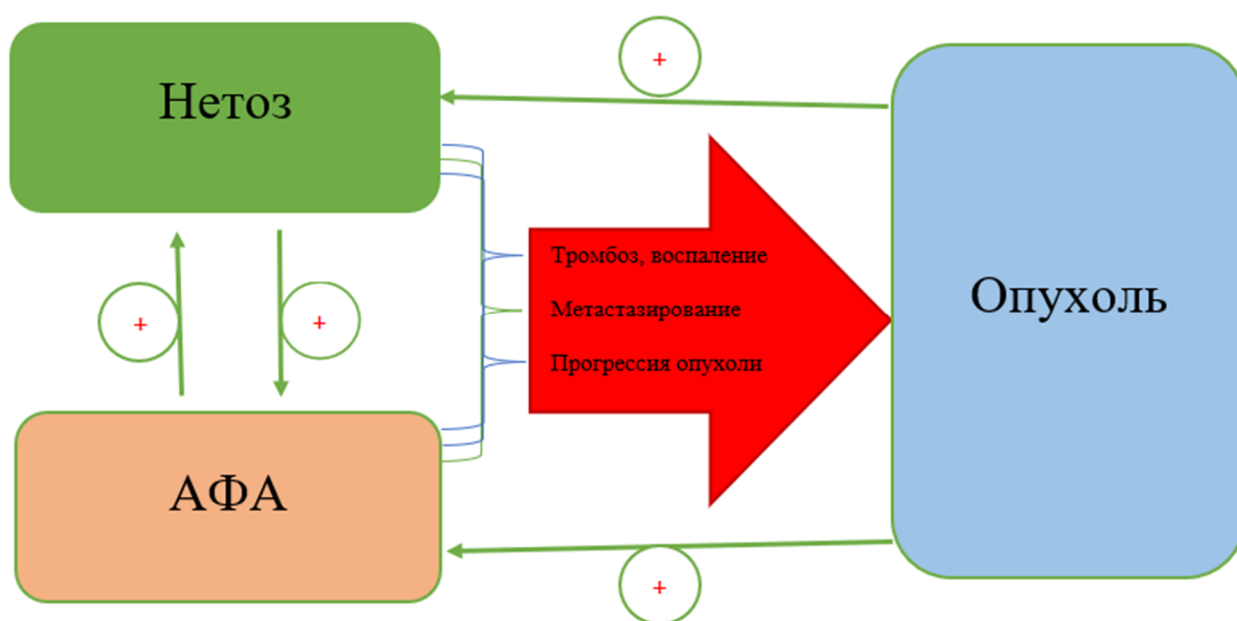


Рисунок 5.5 – Патогенетическая роль АФА и NETs в росте опухоли [415]

Рост концентрации фактора фон Виллебранда зависимый от стадии заболевания и/или снижение концентрации металлопротеиназы ADAMTS13 коррелирует у онкологических больных с худшим прогнозом выживаемости. Снижение концентрации ADAMTS13 и/или рост концентрации фактора фон Виллебранда, согласно данным литературы, были сопряжены с худшим прогнозом выживания при колоректальном раке [419], опухолях головы и шеи [420], раке легких [145] и макроглобулинемии Вальденстрёма [421].

Один из механизмов патогенеза рак-ассоциированного тромбоза основан на опосредованной агрегации тромбоцитов. VWF является медиатором адгезии тромбоцитов к эндотелиальным клеткам и переносчиком фактора VIII [422]. Он способен к адгезии к тромбоцитам и опухолевым клеткам. Агрегация опухолевых клеток и тромбоцитов облегчает переход опухолевых клетки через стенку сосудов и усиливает процессы метастазирования [145]. In vitro было показано, что клетки меланомы побуждают клетки эндотелия сосудов к высвобождению UL-VWF с дальнейшей активацией агрегации тромбоцитов и тромбозом [423]. При этом в опухолевой ткани сочетание снижения концентрации ADAMTS13 и

высвобождения VWF способствует развитию гиперкоагуляции. Агрегация тромбоцитов и высвобождение ULVWF уменьшались после инфузии рекомбинантного ADAMTS13 (rADAMTS13). Эффективность rADAMTS13 как противотромботического средства была подтверждена и в других исследованиях. При использовании rADAMTS13 расщепляются только высокомолекулярные формы белка, при этом базовые концентрации VWF в циркуляции остаются неизменны [424]. В недавнем обзоре терапии ТТП представлены многообещающие данные, демонстрирующие хорошую переносимость как rADAMTS13, так и каплациумаба (нанотело, ингибирующее ULVWF опосредованную агрегацию тромбоцитов) в первой фазе клинических испытаний [425].

В проведенном нами исследовании средняя концентрация ADAMTS13:Аг среди онкогинекологических пациенток составила $0,40 \pm 0,12$ МЕ/мл, что было достоверно ниже по сравнению с показателями в контрольной группе ($0,98 \pm 0,34$ МЕ/мл). Средняя активность ADAMTS13:Ак среди всех онкогинекологических пациенток достоверно была ниже показателя контрольной группы. При определении уровня ингибитора ADAMTS13 показатели онкогинекологических пациенток превышали показатели контрольной группы. Максимальный уровень ингибитора ADAMTS13 определен у пациенток подгруппы «рак яичников» ($6,21 \pm 2,11$ МЕ/мл). При определении концентрации VWF:Аг у большей части онкогинекологических пациенток было выявлено повышение показателя, максимальные значения в подгруппе «рак яичников».

Анти- или прометастатическая роль VWF продолжает обсуждаться. Рост количества метастатических очагов в легких показало одно из исследований на мышцах с дефицитом VWF, что свидетельствует о возможном протективном эффекте VWF в отношении опухолевой прогрессии. В другом исследовании на мышечных моделях *in vivo* VWF способствовал гематогенным путем образованию метастазов в легких, при этом у мышечей ADAMTS13^{-/-} и VWF^{-/-} отмечалось в легких больше метастатических очагов. Была выдвинута гипотеза о том, что при дефиците VWF у мышечей наблюдаются отклонения от нормы в физиологии клеток эндотелия, активирующие прометастатический потенциал, такие как нарушение

регуляции секреции прометаstaticких факторов и отсутствие телец Вайбеля [426].

В проведенном нами исследовании достоверно отличались концентрации VWF:Аг среди пациенток на I стадии и на II–III стадиях заболеваний. Достоверных различий при оценке показателей ADAMTS13:Инг, ADAMTS13:Ак и ADAMTS13:Аг среди пациенток на I стадии и II–III стадиях не было выявлено [129].

Был произведен расчет интегрального показателя – отношения концентрации VWF к концентрации ADAMTS13, который ярче отражал изменения состояния системы свертывания, коррелирующие с концентрацией ТАТ. Согласно шкале оценки Vienna CATS, 1,5–1,6 является условным пороговым значением соотношения VWF/ADAMTS13, при котором целесообразно назначение профилактики тромботических осложнений [427].

Данные недавно проведенного исследования демонстрируют, что для прогнозирования смертности у пациентов с раком легкого лучше использовать отношение показателей, чем каждый из них сам по себе, в связи с потреблением ADAMTS13 из-за избыточной секреции ее субстрата (VWF) после активации эндотелия. Эта концепция уже была предложена, в частности, для системного воспаления и сепсиса, ДВС-синдрома [127, 428]. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы либо закрепить, либо отвергнуть гипотезу о том, что соотношение ADAMTS13/VWF превосходит любой из этих показателей в отдельности для прогнозирования ВТЭ и выживаемости у онкологических больных.

Таким образом, в данном исследовании мы продемонстрировали, что концентрации VWF, ADAMTS13, активность ADAMTS13 и отношение VWF/ADAMTS13 тесно связаны с активацией гемостаза у онкогинекологических пациенток. Модель стратификации риска с включением данных показателей может привести к повышению чувствительности и специфичности прогнозирования ВТЭ и персонализации тромбопрофилактики.

Оценка концентрации, активности, ингибитора ADAMTS13:Инг, концентрации VWF и отношения VWF/ADAMTS13:Аг проводилась до и после терапии в проспективной группе. У пациенток до начала оперативного лечения и химиотерапии и после оперативного лечения и химиотерапии по сравнению с контрольной группой при анализе показателей выявлены достоверные различия. После 2 курсов химиотерапии по сравнению с пациентками после оперативного лечения концентрация ADAMTS-13:Аг была достоверно ниже. В обеих группах до начала терапии по сравнению с контрольной группой концентрация ADAMTS13:Аг была ниже. В группе после оперативного лечения не отмечалось динамики снижения показателя в отличие от пациенток на фоне химиотерапии. У онкологических пациенток концентрация фактора Виллебранда была высокой до начала терапии, однако, она повысилась достоверно больше после 2 курсов химиотерапии по сравнению с пациентками после оперативного лечения.

В проведенном нами исследовании были выявлены различия в концентрациях Д-димера, ТАТ, концентрациях ADAMTS13:Ак, ингибитора ADAMTS13:Инг, ADAMTS13:Аг, VWF:Аг, и отношения VWF:Аг/ADAMTS13:Аг между группами химиотерапии и оперативного лечения. По сравнению со значениями показателей в группе после оперативного лечения, динамика была более выражена в группе после химиотерапии. По таким показателям, как концентрации Д-димера, ТАТ, ADAMTS13:Аг, VWF:Аг, и отношение VWF:Аг/ADAMTS13:Аг группы оперативного лечения и химиотерапии достоверно отличались между собой.

Некоторые препараты для химиотерапии обладают способностью активировать факторы свертывания, снижать чувствительность эндотелия к простациклину за счет прямого токсического действия на него и повышать агрегацию тромбоцитов. Химиотерапия приводит к подавлению фибринолиза и работы естественных антикоагулянтов. Роль химиотерапии в патогенезе тромбозов уже доказана, однако, остаются не до конца изученными конкретные механизмы тромбогенеза. Отсутствие системной оценки исходного состояния гемостаза, в том числе и при приобретенной или врожденной тромбофилии, различия в составе

полихимиотерапии и использование различных схем и режимов терапии затрудняют анализ.

В нашем исследовании среди онкологических пациенток до химиотерапии отношение VWF/ADAMTS13 составило 4,39. Повышение показателя отношения VWF/ADAMTS13 до 6,42, несмотря на использование стандартных доз низкомолекулярного гепарина, было отмечено после проведения 2 курса химиотерапии.

Таким образом, на фоне химиотерапии у пациенток снижается концентрация ADAMTS13, и растет концентрация VWF за счет токсического действия на эндотелий. На фоне истощения компенсаторных возможностей к расщеплению мультимеров UL-WWF нарастает агрегационный потенциал крови, повышая риск тромбозов. Именно определение отношения VWF/ADAMTS13 имеет наибольшее прогностическое значение, и, этот показатель растет на фоне проведения химиотерапии (Рисунок 5.6).

NETs приводят к снижению активности ADAMTS13 [374]. Как внеклеточная ДНК, так и гистоны NETs способны связываться с VWF, а также привлекать в очаг новые нейтрофилы [186]. Посредством электростатического взаимодействия свободно циркулирующая ДНК связывается с доменом A1 фактора Виллебранда напрямую [429]. Это взаимодействие может быть заблокировано гепарином [430]. Резко ухудшает на поверхности VWF адгезию тромбоцитов преинкубация с ДНК, что говорит о блокировке в домене A1 VWF сайта связывания GPIIb [129, 140, 430].

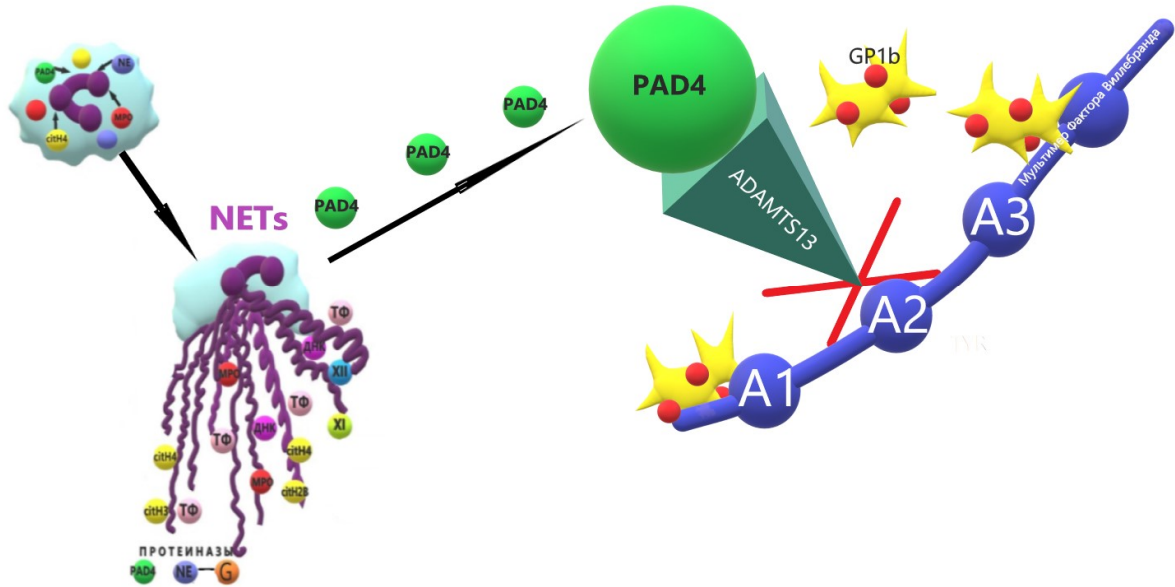


Рисунок 5.6 – Принцип взаимодействия комплекса ADAMTS13/VWF с NETs [135]

Содержащая положительно заряженные фрагменты нейтрофильная эластаза NETs [431] посредством электростатического взаимодействия связывается с фактором фон Виллебранда. Ключевым медиатором для рекрутирования лейкоцитов и тромбоцитов в места повреждений сосудов является фактор фон Виллебранда [432]. При блокировании выделения фактора Виллебранда активированными тромбоцитами синтез тромбоцит-индуцированных NETs подавляется, как показали исследования [433]. Фактор Виллебранда тромбоцитарного происхождения возможно является связующим звеном между нейтрофилами, тромбоцит-индуцированным нетозом и активированными тромбоцитами [129].

NETs и фактор фон Виллебранда по данным исследований обладают провоспалительным эффектом [434, 435]. Связанные с VWF NETs привлекают к активированному эндотелию большее количество лейкоцитов, усиливая провоспалительные эффекты NETs и усиливая инфильтрацию лейкоцитов в окружающие ткани. Высвобождаемый из тромбоцитов и эндотелиальных клеток и VWF, взаимодействует с NETs, способствуя прогрессии тромбоза и воспаления [129].

NETs модулирует активность как ADAMTS13, так и VWF. Повышение концентрации фактора Виллебранда и снижение активности ADAMTS13 наблюдается в плазме крови на фоне системного воспаления при тромботических микроангиопатиях (сепсис-индуцированном диссеминированном внутрисосудистом свертывании крови, аутоиммунных заболеваниях, тяжелом сепсисе, злокачественных новообразованиях) [436]. NETs и активированные нейтрофилы способствуют развитию дефицита металлопротеиназы ADAMTS13. Активированные нейтрофилы и NETs при системном воспалительном ответе выделяют различные пептиды, протеазы, цитокины, и реактивные формы кислорода (хлорноватистую кислоту и перекись водорода). Некоторые провоспалительные цитокины регулируют высвобождение и расщепление в кровотоке мультимеров фактора фон Виллебранда [437]. Комплексы ИЛ-6/ИЛ-6 рецептор, фактор некроза опухоли альфа (ФНО-α) и интерлейкин-8 стимулируют высвобождение мультимеров фактора фон Виллебранда и его связывание на поверхности эндотелиальных клеток с тромбоцитами. ИЛ-6 подавляет расщепление мультимеров фактора фон Виллебранда металлопротеиназой ADAMTS13. На связь дефицита ADAMTS13 больше с протеолизом протеазы в плазме, чем с нарушением биосинтеза указывает тот факт, что при сепсис-индуцированном ДВС-синдроме в плазме крови пациентов определяются низкомолекулярные формы металлопротеиназы ADAMTS13 [438]. Плазмин и нейтрофильная эластаза путем протеолиза *in vitro* инактивируют ADAMTS13 [438, 439]. МПО способствует окислительному повреждению тканей катализируя образование хлорноватистой кислоты из Cl⁻ и перекиси водорода [440]. Хлорноватистая кислота превращает метионин в сульфоксид метионина, окисляя в A2 домене фактор фон Виллебранда в сайте расщепления ADAMTS13 Met1606. Окисленный субстрат становится менее доступным для расщепления металлопротеиназой ADAMTS13 [441]. Генерируемая МРО-H₂O₂-Cl⁻ системой хлорноватистая кислота значительно снижет способность ADAMTS13 расщеплять мультимеры VWF окисляя метионин и в нем [442]. Таким образом, как ADAMTS13, так и VWF, окисляются высвобождаемой при нетозе из

активированных нейтрофилов системой МПО-Н₂O₂-Cl⁻, что приводит к снижению активности ADAMTS13, повышению концентрации мультимеров фактора Виллебранда, к повышению агрегации тромбоцитов и тромбозу [129].

При проведении корреляционного анализа в нашем исследовании среди всех онкогинекологических пациенток показал, что с ростом концентрации МПО:Аг и citH3 растет концентрация VWF:Аг. В подгруппе пациенток «рак яичников» зависимость продемонстрирована наиболее выражено. Корреляционный анализ в этой подгруппе показал, что с ростом концентрации citH3 снижается концентрация ADAMTS13:Аг, ADAMTS13:Ак и растет концентрация VWF:Аг, а с ростом концентрации МПО:Аг снижаются ADAMTS13:Аг и ADAMTS13:Ак. Корреляционный анализ в подгруппе «рак шейки матки» выявил корреляцию между концентрациями VWF:Аг и citH3. Выявлена прямая корреляционная зависимость в подгруппе «рак молочной железы» концентрации citH3 от концентрации VWF:Аг.

В иммунных реакциях важную роль играют пептиды нейтрофилов человека (HNPs – Human neutrophil peptides), или альфа-дефензины [443]. HNPs обладают не только провоспалительным эффектом, но и прокоагулянтным за счет активации тромбоцитов [444] и гипофибринолитическим [445]. Высвобождаемые из активированных нейтрофилов и при нетозе HNPs модулируют ADAMTS13 и VWF. На конкурентной основе связываются HNPs с VWF A2 доменом и блокируют взаимодействие между ADAMTS13 и VWF. У пациентов с острой ТТП (тромботической тромбоцитопенической пурпурой) наблюдается повышение концентрации HNP в плазме крови, что говорит о прямой связи при острой ТТП между дефицитом ADAMTS13 и воспалением [129, 443].

PAD4 при формировании NETs преобразует в остатки цитруллина остатки аргинина в гистонах [446]. Впоследствии он необходим для деконденсации высвобождаемого с NETs хроматина. PAD4 резко снижает ферментативную активность ADAMTS13 за счет его цитруллинирования на остатки аргинина, что приводит к уменьшению времени свертывания [447]. При сепсисе в плазме крови пациентов обнаружен цитруллинированный ADAMTS13 [129, 447].

Комплексы ДНК-гистон, высвобождаемые при нетозе, также связаны с острыми формами ТМА. Пациенты с острыми формами ТТП имеют повышенную концентрацию комплексов ДНК-гистон и МПО, и это повышение обратно пропорционально количеству тромбоцитов, что косвенно свидетельствует о том, что ДНК-гистон комплексы и МПО могут способствовать развитию тромбоцитопении [254]. Таким образом, VWF может быть потенциальной терапевтической мишенью при остром ТТП, индуцированном воспалением [129, 448].

За счет протеолиза, окисления, конкурентного связывания с субстратом VWF A2 или цитруллинирования компоненты NETs подавляют активность ADAMTS13, приводя к росту концентрации антигена фактора Виллебранда, концентрации его мультимеров и тромботическим осложнениям. Однако, некоторые протеазы внеклеточных ловушек обладают противотромботическим действием расщепляя фактор фон Виллебранда как ADAMTS13. In vivo их значение пока не определено. Пролить свет на взаимосвязь между дефицитом ADAMTS13 и воспалением позволяет изучение этих процессов. Большое количество активированных нейтрофилов, компонентов внеклеточных ловушек нейтрофилов на поврежденной стенке сосуда, в непосредственной близости от фактора фон Виллебранда подтверждает их взаимодействия. NETs опосредованный дефицит металлопротеиназы ADAMTS13 способствует формированию мультимеров, привлекающих к стенке сосуда еще больше активированных нейтрофилов и внеклеточных ловушек, способствуя прогрессии тромбовоспаления, что формирует порочный круг. Использование ДНКазы I и/или рекомбинантного человеческого ADAMTS13, является потенциальной терапевтической стратегией борьбы с ТМА и другими системными воспалительными и тромботическими осложнениями, в том числе в случае тромбовоспаления в онкологии [129].

Проведенное исследование демонстрирует у онкологических пациенток провоспалительный статус. До начала терапии во всех подгруппах заболеваний выявлены высокие концентрации маркеров нетоза (MPO:Ag и citH3). Анализ концентрации маркеров нетоза далее проводился через 14 дней после 2, 4 и 6 курсов

химиотерапии, либо на 14 сутки после оперативного лечения. Курсы химиотерапии преимущественно включали в себя комбинации препаратов карбоплатин и паклитаксел. Цисплатин и бевацизумаб применялись у некоторых пациенток. Сравнению подверглись концентрации маркеров нетоза у пациенток, госпитализированных для проведения химиотерапии до и после 2, 4 и 6 курсов химиотерапии и концентрации маркеров нетоза у пациенток, прошедших оперативное лечение, до и после вмешательства [225]. В послеоперационном периоде не было выявлено достоверных различий с дооперационными значениями. Отмечено достоверное повышение концентрации маркеров нетоза через 14 дней после 2 курса химиотерапии (Рисунок 5.7) [225].

После 2 курса химиотерапии пациентки проспективной группы на фоне проведения химиотерапии были разделены на две подгруппы. В одной подгруппе был назначен НМГ, в другой – комбинация НМГ+аспирин с целью дальнейшего мониторинга концентрации маркеров нетоза и активации гемостаза. Аспирин был выбран как препарат с противовоспалительным эффектом для оценки эффективности комбинации терапии НМГ с противовоспалительной терапией в отношении снижения выраженности нетоза.

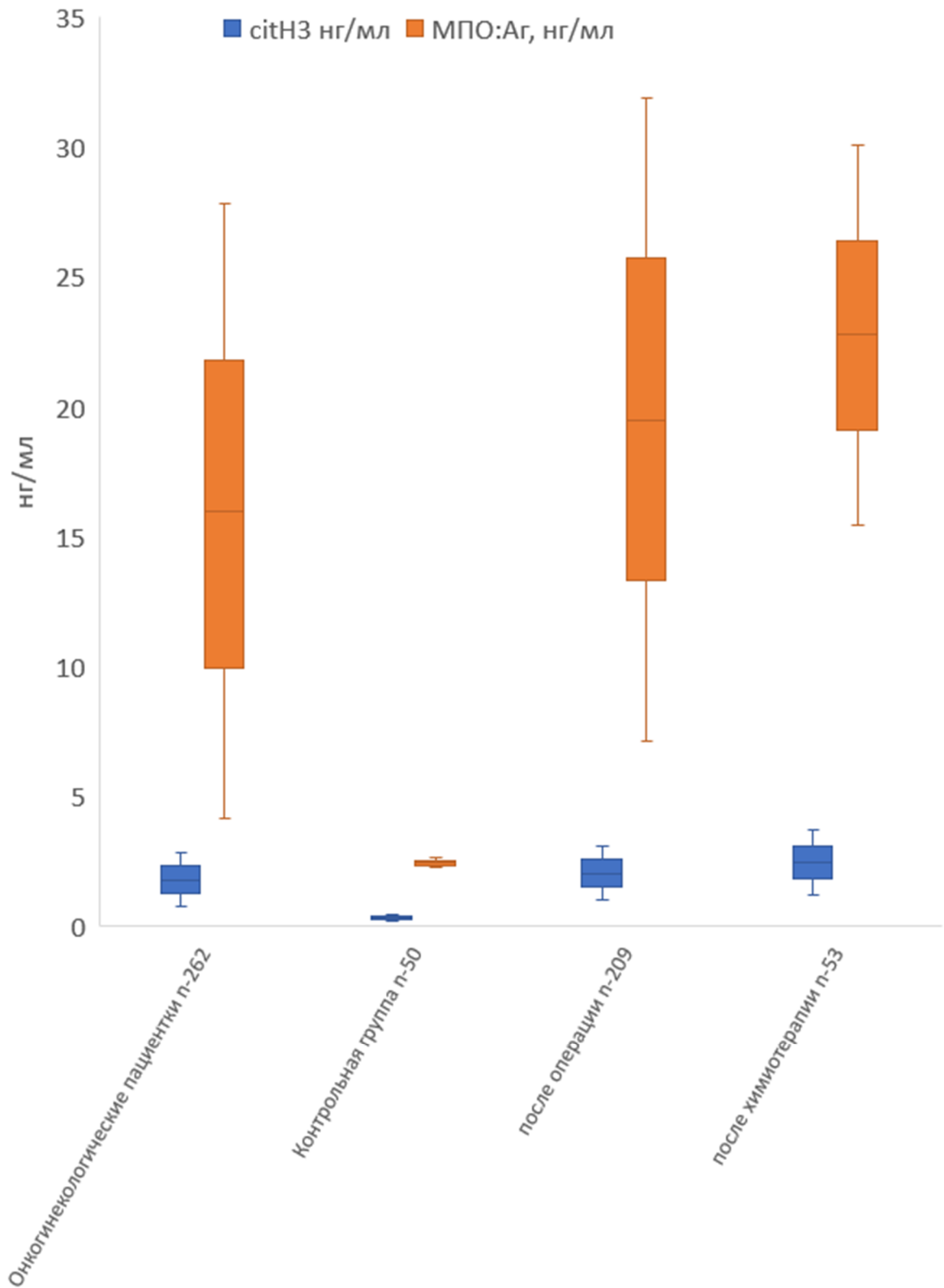


Рисунок 5.7 – Динамика концентраций маркеров нетоза до и после терапии у онкогинекологических пациенток и в контрольной группе

В исследовании было показано, что после 4 курса химиотерапии в подгруппе пациенток, использовавших НМГ, произошло достоверное снижение концентрации как маркеров нетоза (CitH3 гистон, МПО:Аг, $p < 0,05$), так и маркеров активации гемостаза (ТАТ, Д-димер, $p < 0,05$). В подгруппе пациенток, принимавших НМГ+аспирин, также было отмечено достоверное снижение концентрации маркеров нетоза и маркеров активации гемостаза. При сравнении показателей двух подгрупп средние значения у пациенток подгруппы НМГ+аспирин были ниже, чем в подгруппе НМГ, достоверность различий была статистически незначима. После 6 курса химиотерапии на фоне проводимой терапии НМГ или НМГ+аспирин в обеих подгруппах продолжалась тенденция к снижению концентрации маркеров нетоза и активации гемостаза, 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 незначимыми ($p > 0,05$). 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 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.

Фосфорилирование НАДФН-оксидазы протеинкиназой С в нейтрофилах происходит в результате стимуляции нейтрофилов различными агентами. Результатом фосфорилирования является образование активных форм кислорода с последующим PAD4-зависимым цитруллинированием гистонов в нейтрофиле. В финале NETоза происходит деконденсация хроматина, распад ядерной мембраны и выброс внеклеточной ловушки. Цитруллинированию гистонов активно способствует протеиновая аргининдеаминаза-4. Семейство ферментов пептидил-аргинин дезаминаз катализируют превращение Ca^{2+} -зависимым образом остатков аргинина в остатки цитруллина [449]. Это превращение носит название цитруллинированием и приводит к потере заряда белка [450]. Пять изоформ PAD (PAD1-4 и PAD6) с тканеспецифической экспрессией обнаружено у человека [451]. PAD4 выявляют преимущественно в лейкоцитах. PAD4 - единственный изотип, локализующийся в ядре. Ингибирование PAD4 препятствует цитруллинированию H3 гистона и синтезу внеклеточных ловушек нейтрофилов [452]. У лишенных PAD4 лабораторных мышей не происходит деконденсации хроматина и NETоза [225, 453].

Протромботический потенциал PAD4 на фоне химиотерапии и повышенной концентрации свободной ДНК (свДНК) изучался в одном из исследований [454]. Оказалось, что платиносодержащая химиотерапия при раке легких запускает выброс свДНК, приводя к росту интенсивности тромбинемии у мышей PAD4+/+. Так как химиотерапия не влияла у мышей PAD4-/- ни на концентрацию свДНК, ни на образование тромбина, рост концентрации свДНК и тромбина был связан с PAD4. Таким образом, платиносодержащая химиотерапия оказывает прокоагулянтное действие в течение 24 часов после начала лечения у здоровых мышей благодаря NETозу (Рисунок 5.8). Источником свДНК на фоне химиотерапии нейтрофилы считаются давно [224, 225].

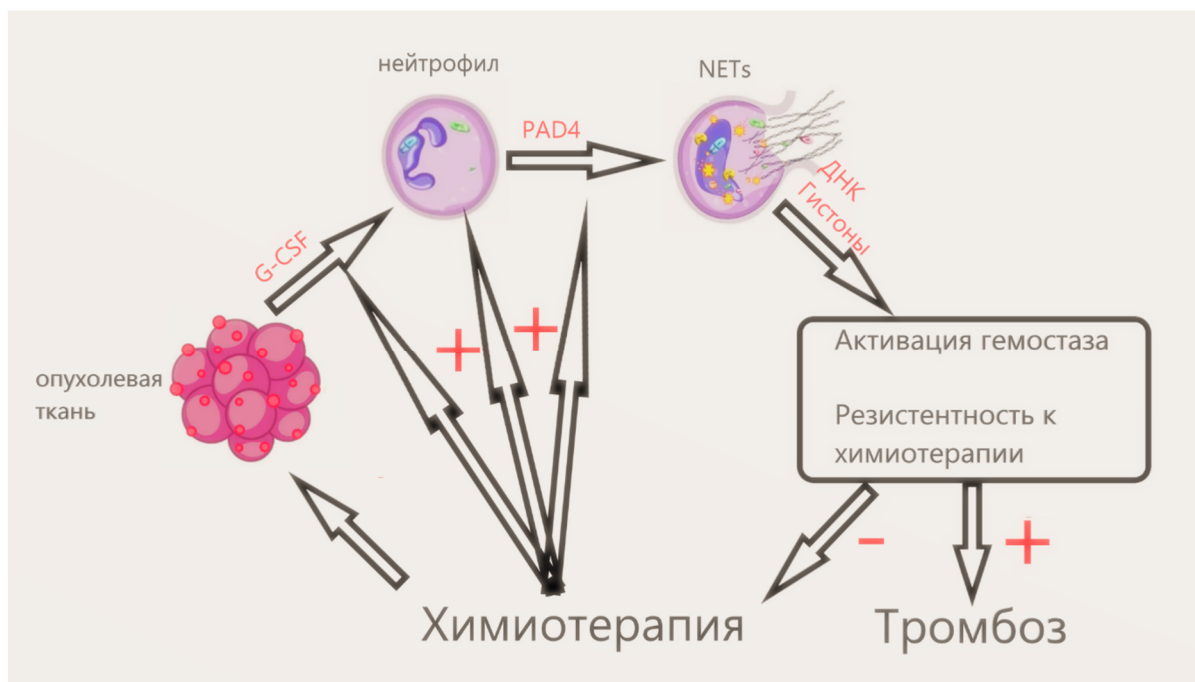


Рисунок 5.8 – Механизм NETоза на фоне химиотерапии [225]

Платиносодержащая химиотерапия способствует выбросу свДНК нейтрофилами, а не моноцитами, эндотелиальными или опухолевыми клетками [455]. При этом выброс свДНК из нейтрофилов происходит не путем некроза или апоптоза, а в результате NETоза [224]. В исследовании в плазме крови мышей PAD4^{+/+} на фоне химиотерапии ДНКазы снижала образование тромбина. Этого не происходило у мышей PAD4^{-/-}, что свидетельствует о прокоагулянтных эффектах платиносодержащей химиотерапии, основанных на PAD4 зависимом выбросе свДНК [454]. Среду, которая способствует NETозу и высвобождению нейтрофилами создает опухоль. Опухоль-ассоциированные нейтрофилы запускают нетоз под воздействием G-CSF, как показали недавно проведенные исследования. Праймированные нейтрофилы после повторной активации в виде химиотерапии чаще подвергаются NETозу по сравнению с нейтрофилами, которые воздействию G-CSF не подвергались [108]. Исследования также выявили прогрессию рака молочной железы на фоне повышенной концентрации нейтрофилов, свДНК и G-CSF в плазме крови пациенток [108, 225].

Для полного разрушения внеклеточных ловушек нейтрофилов недостаточно ДНКазы I в физиологических концентрациях. Дополнительную роль играет и активное поглощение внеклеточных ловушек макрофагами путем фагоцитоза [456]. У пациенток при раке молочной железы, как показали исследования, химиотерапия на концентрацию и активность ДНКазы не влияла [457]. свДНК за счет нарушения процессов фибринолиза способствует развитию прокоагулянтного состояния [404, 458]. Одновременная обработка сгустков крови активатором тканевого плазминогена и ДНКазой в эксперименте была для лизиса наиболее эффективной, что дает возможность предположить, что внеклеточные ловушки нейтрофилов для образования сгустка могут служить каркасом [103, 225].

В проведенном нами исследовании у госпитализированных для оперативного вмешательства пациенток исходно не было выявлено различий в концентрациях маркеров нетоза по сравнению с пациентками, планирующими химиотерапию. Рост маркеров нетоза оказался достоверно более выраженным в плазме крови пациенток через 14 дней после 2 курса химиотерапии, чем у пациенток через 14 дней после оперативного вмешательства.

Неконтролируемое и быстрое деление клеток является отличительной чертой опухоли. Механизм действия большинства классических химиотерапевтических средств заключается во влиянии на клеточное деление быстро делящихся клеток, без влияния на покоящиеся клетки. Это достигается преимущественно за счет повреждения ДНК, остановки клеточного цикла и развития апоптоза [225].

Выделенный из коры западного тиса первоначально, паклитаксел и родственные таксаны благодаря их способности подавлять пролиферацию рассматривались как многообещающие средства для противоопухолевой терапии. Паклитаксел стабилизирует тубулин (микротрубочки) и подавляет их разборку, за счет чего и оказывает противоопухолевое действие [459]. Микротрубочки играют роль в формировании цитоскелета клеток, в подвижности и делении, в клеточном транспорте, и представляют собой полимеры цитоскелета [460]. Их стабилизация преимущественно происходит за счет связыванием с β -тубулином паклитаксела [461] и последующей в пролиферирующих клетках остановке митоза и индукции

апоптоза [462]. Было показано, что в отношении различных видов опухолей, таких как рак яичников, легких, молочной железы и головного мозга таксаны демонстрируют свою эффективность [225, 463].

Карбоплатин имеет аналогичный механизм действия, так как он является производным цисплатина. Карбоплатин связывается с ДНК, подавляет репликацию ДНК, запускает клеточную гибель. Карбоплатин, как и цисплатин, подвергается гидролизу внутри клетки с образованием внутрицепочечных поперечных и межцепочечных связей ДНК. Карбоплатин, в отличие от своего предшественника цисплатина, обладает меньшим количеством побочных эффектов, но и меньшей эффективностью в связи с более низкой скоростью образования платина-ДНК аддукта [464]. Карбоплатин можно использовать в более высоких дозах из-за меньшего количества побочных эффектов [225].

Ранее нейтрофилы ассоциировались с плохой реакцией на блокаду контрольных точек иммунотерапии. Как показали последние исследования, именно NETоз лежит в основе подобного сопротивления [249]. При аденокарциноме поджелудочной железы, активированные интерлейкином-17 (IL-17) нейтрофилы подвергались NETозу и защищали от CD8⁺ Т-клеток клетки опухоли [465]. При этом ингибирование IL-17, как показали исследователи, улучшало чувствительность к терапии опухоли [225, 465].

Было показано, что агонисты хемокиновых рецепторов CXCR1 и CXCR2 защищают опухолевые клетки от иммунной цитотоксичности запуская NETоз. Исследования *in vitro* продемонстрировали, что внеклеточные ловушки, физически препятствующих контакту с естественными киллерами и CD8⁺ Т-клетками нейтрофилов, обволакивают клетки опухоли [42]. Восстанавливала контакт мишень-эффектор, приводя к гибели опухолевых клеток обработка ДНКазой 1 [42].

На роль участников формирования резистентности к терапии рака заявлено пять компонентов NETs: MMP-9 (металлопротеиназа 9), CEACAM1 (carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule 1, молекула карциноэмбрионального антигена клеточной адгезии 1), эластаза нейтрофилов, PD-(L)1 и катепсин G [225, 252].

Нейтрофильная эластаза потенцирует противомикробную активность нейтрофилов и при NETозе выделяется во внеклеточное пространство. Она представляет собой сериновую протеазу азурофильных гранул нейтрофилов [252]. Нейтрофильная эластаза способствуя эпителиально-мезенхимальному переходу (ЭМП) формирует резистентность опухоли к химиотерапии [466]. Опухолевая клетка переходит в мезенхимальный фенотип при ЭМП с большими антиапоптотической и миграционной способностями [225, 467].

Белок нейтрофилов MMP-9 облегчает прогрессию опухоли, действуя через внеклеточный матрикс (ВКМ) [468]. В недавних исследованиях было показано, что MMP-9 также вызывает и развитие химиорезистентности опухоли. При распространенном первичном раке желудка плохому ответу на химиотерапию сопутствовали положительная экспрессия MMP-9 и деградация ВКМ на этом фоне [469]. Ангиогенез является одним из механизмов патогенетического действия MMP-9. На фоне патологического ангиогенеза формируется аномальная сосудистая сеть опухоли, замедляющая диффузию препаратов для химиотерапии [225, 470].

SEACAM1 является трансмембранным гликопротеином семейства белков карциноэмбрионального антигена (CEA), которые участвуют в активации нейтрофилов и прогрессии рака [471]. SEACAM1 NETs способствует NETs-зависимому формированию метастазов за счет усиления миграции и адгезии опухолевых клеток [471]. SEACAM1 способствует также истощению пула Т-клеток [225, 472].

Лиганд PDL-1, взаимодействуя со своим мембранным рецептором PD-1 моделирует противоопухолевую активность Т-клеток и истощает пул Т-клеток, что, в свою очередь, является хорошо описанным механизмом формирования резистентности к иммунотерапии и прогрессии опухоли [472, 473]. Способность внеклеточных ловушек нейтрофилов, как показали исследования, истощать пул Т-клеток и формировать резистентность к иммунотерапии устраняется при использовании DNКазы [474].

Результаты проведенного нами исследования, а именно, достоверно более выраженный рост концентрации NETs по сравнению с пациентками после оперативного лечения у пациенток после химиотерапии, являются основой для формулирования гипотезы о том, что NETоз – это один из процессов, лежащих в основе неэффективности и резистентности к химиотерапии и тромбозов на фоне химиотерапии [225].

NETоз представляет собой особый механизм биологии нейтрофилов, значение которого находится на старте изучения в теоретической и клинической онкологии. Важнейшим компонентом противоопухолевой терапии является химиотерапия, а, следовательно, разработка новых терапевтических стратегий для снижения частоты осложнений, развития резистентности к проводимой терапии и повышения эффективности терапии имеет жизненно важное значение для онкологических пациентов. Важно рассмотреть в будущем на фоне проведения терапии целесообразность мониторинга интенсивности NETоза с целью прогнозирования и возможного улучшения ответа на химиотерапию, а также снижения частоты осложнений, учитывая вероятность того, что внеклеточные ловушки нейтрофилов вносят свой огромный вклад в протромботический потенциал на фоне проведения химиотерапии, а также способствуют развитию резистентности к ней [225].

Изложенные в диссертационной работе фундаментальные и клинические научные данные подтверждают необходимость дальнейшего изучения NETs-зависимых взаимодействий, которые с одной стороны, способствуют развитию тромбоза на фоне химиотерапии у онкологических пациентов, а с другой – позволяют опухолям сопротивляться различным видам терапии [225].

5.2 Наследственная и приобретенная тромбофилия как фактор, влияющий на прогноз у онкогинекологических пациенток

В общей популяции было идентифицировано несколько генетических причин рак-ассоциированного тромбоза. В европеоидной популяции к ним относятся мутации фактора V Лейдена и протромбина G20210A, которые, соответственно, приводя к снижению клиренса, активированного FV активированным протеином C (APC резистентность), и повышению экспрессии протромбина, способствуют тромбообразованию [475]. 5% населения европеоидной расы имеют мутацию фактора V Лейден, которая от двух до пяти раз повышает риск ВТЭ [476]. Мутация протромбина встречается реже и коррелирует почти с трехкратным увеличением риска тромбоза [476].

Первоначально наследственная тромбофилия изучалась в общей популяции. Позже возник интерес к изучению ее прогностической роли в развитии рак-ассоциированного тромбоза. Первое исследование, демонстрирующее роль наследственной тромбофилии, было проведено в 2002 г. Pihusch и соавт. [477]. Авторы оценили вклад мутаций V Лейден, протромбина G20210A и MTHFR C677T в развитие ВТЭ у пациентов со злокачественными заболеваниями желудочно-кишечного тракта среди немцев. Было показано, что только мутация V Лейден является потенциальным прогностическим биомаркером, повышающим риск тромбоза более чем в четыре раза. Далее было проведено еще около 23 исследования, в которых оценивали вклад мутации V Лейден в развитие рак-ассоциированных тромбозов, в 13 из которых сообщалось о значительной взаимосвязи. Исследования проводились в разных популяциях мира, но большинство из них в популяции Турции, где этот генетический вариант особенно распространен.

Исследованию подверглись и другие мутации, и полиморфизмы, включая полиморфизм F13, PAI-1 4G/5G, MTHFR, ACE, CYP4V2, GP6, ITGB3, F11, FGG, FGB и ABO, где также были подтверждены достоверно прогностические возможности. Помимо этого, в исследованиях изучались полиморфизмы генов

гемостаза, ранее не изученные в общей популяции, например, CPB2, PROZ, F7, ITGB3, SERPINC1, F3, FR2 (PAR1) и PLAT. Среди них полиморфизм ITGB3, регулятора экспрессии ITGB3, регулирующего активность тромбоцитов и эндотелиальных клеток, оказался потенциальным предиктором тромбоза у пациентов с колоректальным раком [478].

Учитывая многокомпонентность патогенеза тромбоза, исследованию подверглись и генетические варианты генов участников ангиогенеза, ремоделирования внеклеточного матрикса, воспаления, метаболизма, синтеза и/или репарации ДНК и регуляции сигнальных путей [50, 479, 480-484].

Большинство исследований в области рак-ассоциированного тромбоза проведено на гетерогенных популяциях без учета локализации первичной опухоли, которая оказывает большое влияние на риск тромбообразования. В связи с этим возникает необходимость в продолжении исследований в этой области, а также изучении более распространенных генетических вариантов именно среди онкогинекологических пациенток.

В проведенном нами исследовании были выявлены значительные достоверные различия в обнаружении мутации V Лейден и мутации протромбина G20210A между группами ретроспективных пациенток, у которых после противоопухолевой терапии развились тромботические осложнения и нет. Мутация V Лейден G1691A у онкологических пациенток без тромбозов в гомозиготной форме не определялась, гетерозиготной выявлялась у 5 (4,6%). Среди 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 выявлена у одной пациентки (2%) ($p < 0,001$) (Рисунок 5.9).

Мутация протромбина G20210A у пациенток без тромбозов в гомозиготной форме AA не выявлена, в гетерозиготной GA выявлена у семи (6,4%). У пациенток с тромбозами гомозиготный вариант AA выявили у 2 (2,0%), гетерозиготный GA – у 23 (23,5%), в контрольной группе у одной определена гетерозиготная форма GA (2%), $p < 0,001$ (Рисунок 5.10).

ПАЦИЕНТКИ С ТРОМБОЗАМИ N-98

ПАЦИЕНТКИ БЕЗ ТРОМБОЗОВ N-109

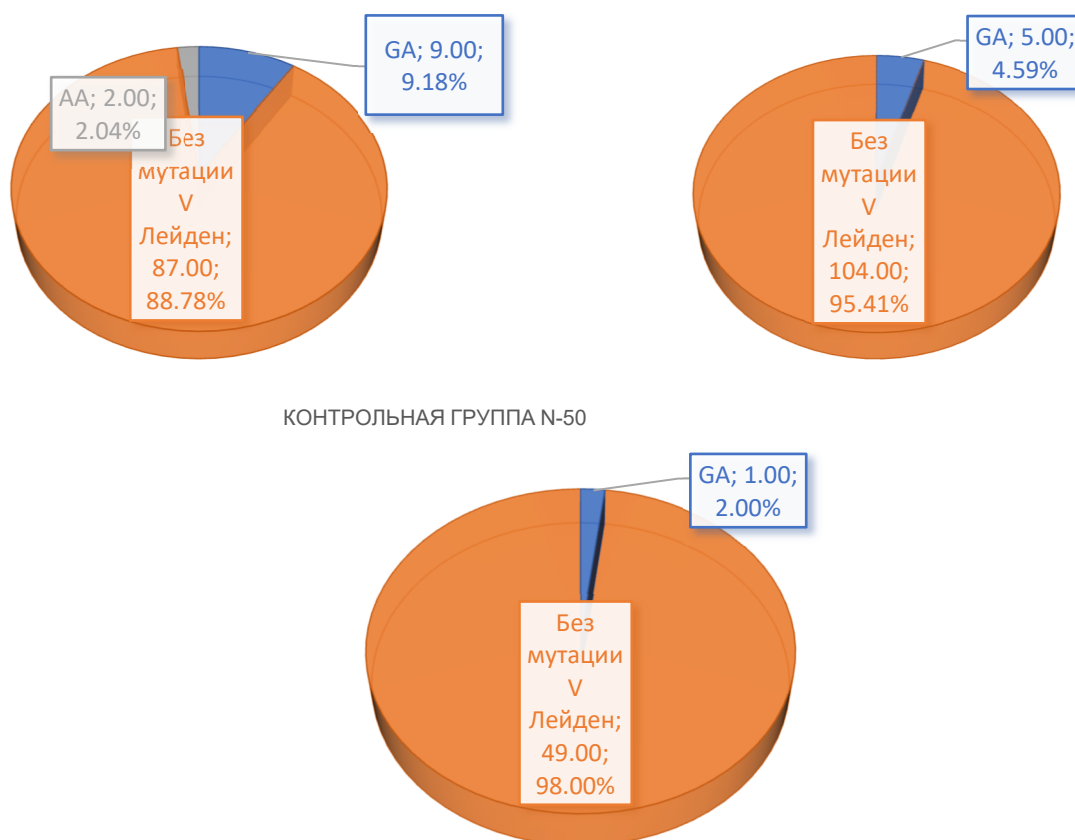


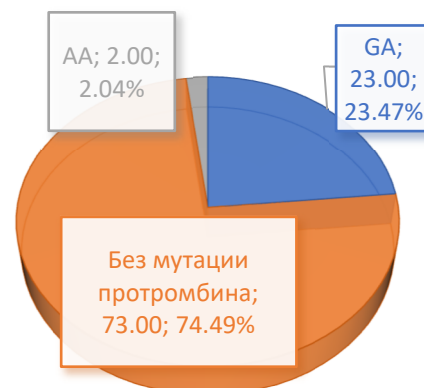
Рисунок 5.9 – Частота встречаемости мутации V Лейден G1691A среди онкогинекологических пациенток ретроспективной группы с тромбозами и без, а также в контрольной группе ($p < 0,001$)

В настоящем исследовании при анализе структуры пациенток ретроспективной группы было показано, что частота встречаемости мутации МТФНР С677Т достоверно не отличалась между подгруппами онкогинекологических пациенток с тромботическими осложнениями и без, а также в сравнении с контрольной группой, что соответствует данным мировой литературы.

ПАЦИЕНТКИ БЕЗ ТРОМБОЗОВ N-109



ПАЦИЕНТКИ С ТРОМБОЗАМИ N-98



КОНТРОЛЬНАЯ ГРУППА N-50



Рисунок 5.10 – Частота встречаемости мутации протромбина G20210A среди онкогинекологических пациенток ретроспективной группы с тромбозами и без, а также в контрольной группе ($p < 0,001$)

В исследовании, проведенном Johnson и соавт. среди пациентов с множественной миеломой, получавших талидомид, проанализировано 3400 полиморфизмов в отношении тромбогенного риска и влияния на прогрессию опухоли и реакцию на терапию. В результате выявлено 18 прогностически значимых для ВТЭ полиморфизмов у пациентов с миеломой. Полиморфизмы преимущественно присутствовали в генах, участниках обменных процессов, иммунного ответа/воспаления, апоптоза, экспрессии генов и/или репарации повреждений ДНК. В их числе и полиморфизм гена PAI-1 SERPINE1 rs2070682, который принимает участие в патогенезе рак-ассоциированного тромбоза за счет дисбаланса фибринолиза [485]. В проведенном нами исследовании в

ретроспективной группе пациенток было показано, что частота встречаемости полиморфизма гена PAI-1 SERPINE1 rs2070682 достоверно не отличалась между подгруппами онкогинекологических пациенток с тромботическими осложнениями и без, а также в сравнении с контрольной группой.

У 5% лиц, по последним данным, с идиопатическим тромбозом в течение одного года после тромбоза выявляется злокачественная опухоль [486]. У онкологических пациентов по сравнению с общей популяцией при постановке диагноза, наоборот, выявляют более высокую частоту генетической тромбофилии и гиперкоагуляцию [487]. Данные в совокупности свидетельствуют о тесной взаимосвязи между опухолевым ростом и нарушением регуляции гемостаза, что указывает на возможную роль мутаций и полиморфизмов генов гемостаза в инициации злокачественного роста. Чтобы оценить, может ли генетическая тромбофилия быть потенциальным предиктором рака проведено ряд исследований.

Мутация протромбина, по данным одного из исследований, является фактором риска роста злокачественных опухолей желудочно-кишечного тракта [477]. Активация протромбина с формированием тромбина является возможным механизмом, который, помимо гемостатических функций, посредством взаимодействия с рецептором PAR-1 влияет на пролиферацию, адгезию и выживаемость опухолевых клеток [488]. Vossen и соавт. подтвердили роль в канцерогенезе мутации V Лейден и мутации протромбина, при этом [489] обнаружили защитный эффект генотипа AG мутации протромбина для колоректального рака. Таким образом, учитывая противоречивые данные, необходимы исследования с более крупными когортами для выяснения роли наследственной тромбофилии в канцерогенезе.

Что касается вклада генетических полиморфизмов и мутаций гемостаза в повышении риска прогрессии опухоли и метастазировании, в исследовании было показано, что со снижением выживаемости при раке яичка на фоне платиносодержащей химиотерапии и с повышенным риском раннего рецидива заболевания связан генотип PAI-1 (SERPINE1 rs1799889 4G/4G) [490]. Считается, что PAI-1, независимо от uPA, блокирует апоптоз в опухолевых и эндотелиальных

клетках и усиливает неоангиогенез опухоли, способствуя ее прогрессии [491]. При раке молочной железы Tinholt и соавт. [492] сообщили о различных полиморфизмах TFPI, связанных с подтипом, наличием метастазов в лимфоузлах, и размером опухоли. Активность ТФ, запускающего внешний путь свертывания крови регулирует TFPI. Опухолевая экспрессия ТФ, запускаемая онкогенами, способствует ангиогенезу, пролиферации и инвазии клеток, а также метастазированию. TFPI обладает противометастатическими свойствами, повышение его экспрессии у пациенток при раке молочной железы коррелируют с лучшим прогнозом.

Было отмечено среди пациентов с неметастатическим злокачественным заболеванием и мутацией V фактора Лейден снижение общей выживаемости. Как упоминалось ранее, непосредственной роли FV в канцерогенезе не выявлено, таким образом, снижение выживаемости, вероятнее всего, было связано с образованием тромбина.

В проведенном нами исследовании среди пациенток с тромбозами при наличии отдаленных метастазов мутации протромбина G20210A и фактора V Лейден выявлялись достоверно чаще (Рисунок 5.11) и на более поздних стадиях заболевания, что может свидетельствовать о вкладе этих генетических нарушений в канцерогенез и прогрессию опухоли. Уже доступны в настоящее время данные исследований, изучающих роль наследственной тромбофилии в прогрессии рака при ряде типов опухолей, включая колоректальный рак, опухоли молочной железы, яичек и гинекологические опухоли. Имеющие 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.

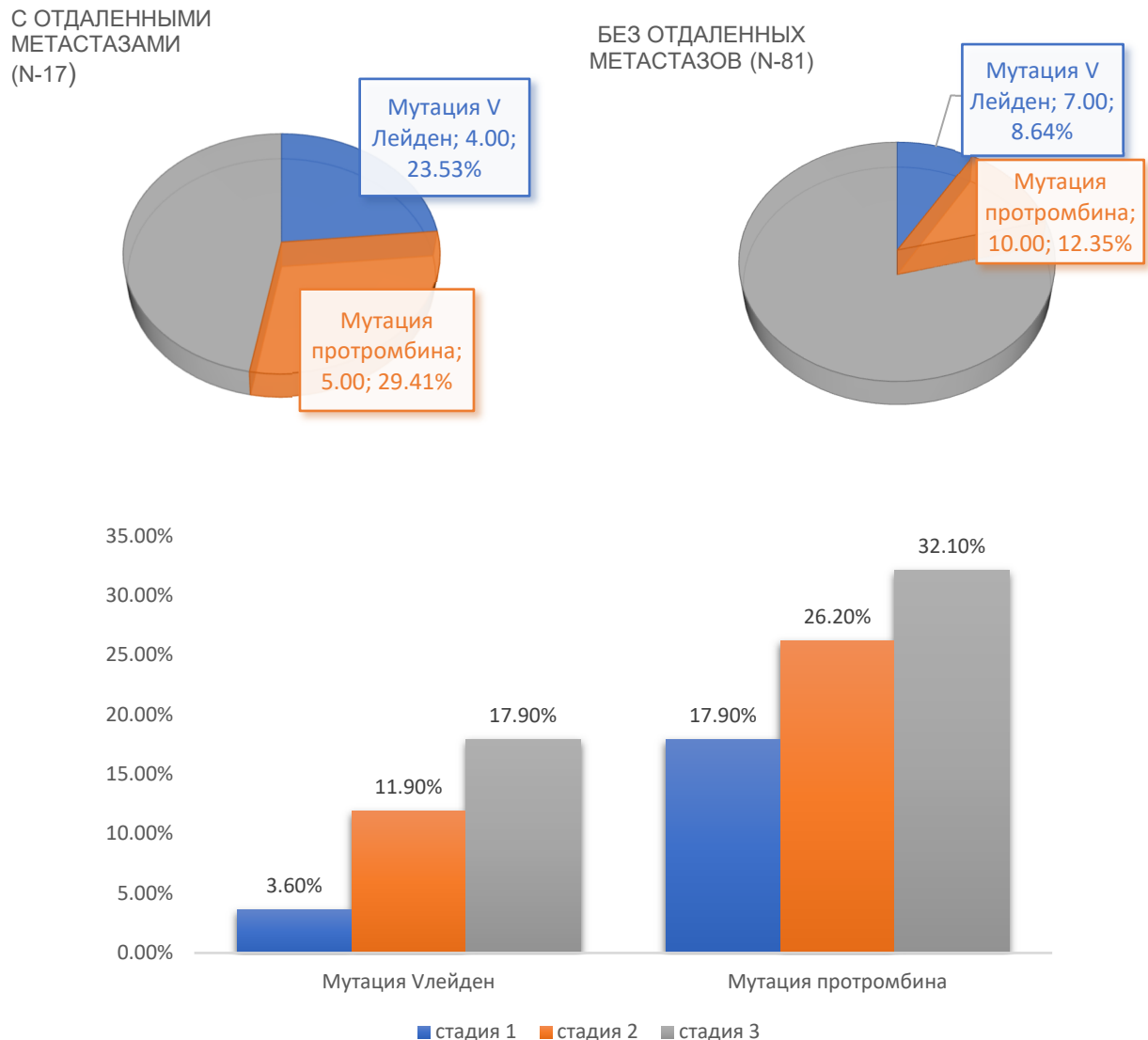


Рисунок 5.11 – Частота встречаемости мутаций протромбина и V Лейден среди онкогинекологических пациенток с тромбозами (n=98) в зависимости от наличия метастазов и стадии заболевания

Возможности определения мутаций фактора V Лейден и протромбина в настоящее время доступны широким слоям населения. Исследования могут проводиться не только на этапах определения персонафицированного риска при развитии рака, но и быть проведены ранее, к примеру, при неудачах беременности или до назначения оральных контрацептивов или в связи с отягощенным тромботическим анамнезом. Знание о наличии данных мутаций повысит

эффективность противотромботической профилактики, которая данным пациентам будет назначена в обязательном порядке, и при этом у этих пациенток НМГ демонстрирует достаточную эффективность в связи с патогенетическим эффектом. Помимо противотромботического эффекта, назначение НМГ таким женщинами будет способствовать снижению вероятности метастазирования и снижению скорости прогрессии опухоли.

Исследования последних лет с разной степенью достоверности показали, что с различными типами опухолей связаны полиморфизмы генов ферментов участников обмена гомоцистеина (CBS, MTHFD, MTHFR, MTR, MTRR, BHMT, TCN 2, TYMS) [176]. Как было показано, полиморфизмы генов ферментов MTHFR C677T [174] и A1298C [175], сопутствуют раку молочной железы и аденокарциноме эндометрия. Полиморфизм гена фермента MTR A2756G сопряжен с развитием рака тела и шейки матки [172, 173, 176]. Протективным эффектом полиморфизмы обладают при колоректальном раке [493] и раке желудка [494], и наоборот, способствуют развитию рака предстательной железы [495]. Эти противоречивые результаты, вероятно, связаны с относительно небольшими выборками и генетической неоднородностью изучаемых популяций.

В проведенном исследовании, достоверных различий в частоте полиморфизмов в группах онкогинекологических пациенток и контрольной при оценке распространенности полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла (MTHFR A1298C, MTRR A66G, MTR A2756G, MTHFR C677T) выявлено не было ($p > 0,05$). Особенности исследуемой популяции или размеры выборки объясняют отсутствие различий [176].

Фолиевая кислота активно используется опухолевыми клетками для синтеза пуринов в процессе канцерогенеза [219]. На фоне дефицита фолиевой кислоты концентрация гомоцистеина растет. К резкому росту концентрации гомоцистеина у онкогинекологических пациенток приводит и химиотерапия, так как антифолатами являются многие из препаратов [220]. Использование антифолатов приводит к дополнительному снижению в плазме крови концентрации фолиевой кислоты [176].

Средняя концентрация гомоцистеина была повышена у онкогинекологических пациенток по сравнению с группой контроля. Средняя концентрация гомоцистеина у онкогинекологических пациенток составила $23 \pm 20,19$ $\mu\text{моль/л}$, что достоверно превышало показатели контрольной группы $9 \pm 2,74$ $\mu\text{моль/л}$ ($p < 0,05$). Различий в средней концентрации гомоцистеина у пациенток после оперативного лечения и после химиотерапии выявлено не было. Возможно, отсутствие различий связано с небольшим количеством пациенток после химиотерапии, а также с узким спектром используемых препаратов для химиотерапии (преимущественно паклитаксел и карбоплатин). Гомоцистеин сам по себе токсичен для клеток человека. Формирование гомоцистеин-тиолактона в дальнейшем приводит к синтезу свободных радикалов, что оказывает повреждающее действие на ДНК [214, 496]. Zhu и соавт. выдвинули гипотезу о гипергомоцистеинемии как факторе риска эстроген-зависимого рака у женщин [497]. Гипергомоцистеинемия может проявлять свои патогенные эффекты в основном за счет накопления внутриклеточного S-аденозил-L-гомоцистеина, сильного неконкурентного ингибитора катехол-O-метилтрансферазы, которая участвует в метилировании эндогенных и экзогенных катехолэстрогенов (в основном 2-гидроксиэстрадиола и 4-гидроксиэстрадиола). Подавление метилирования 2-гидроксиэстрадиола снижает интенсивность формирования 2-метоксиэстрадиола (противоопухолевого эндогенного метаболита 17β -эстрадиола), подавление метилирования 4-гидроксиэстрадиола приводит к накоплению этого гормонально-активного и проканцерогенного катехолового метаболита эстрогенов. Оба этих эффекта способствуют развитию эстроген-зависимых опухолей в органах-мишенях. Эта гипотеза предполагает, что адекватное потребление фолиевой кислоты, витамина B6 и витамина B12 с пищей может снизить риск эстрогензависимого рака на фоне гипергомоцистеинемии.

Влияние фолиевой кислоты на риск тромбоза и канцерогенез обусловлен участием ее в реметилировании гомоцистеина. Фолиевая кислота выступает в роли кофермента и является донором метильных групп, необходимых для внутриклеточных реакций метилирования. Крупные проспективные

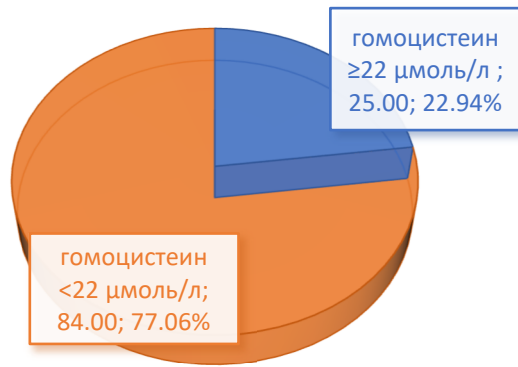
эпидемиологические исследования продемонстрировали важную роль фолиевой кислоты в снижении риска рака молочной железы [498, 499]. Несмотря на доказанную связь между фолиевой кислотой и раком, в большинстве исследований нет единого мнения по поводу его приема онкологическими пациентами. Некоторые исследования показывают снижение риска [500, 501] и другие сообщают об отсутствии связи [502] или даже о повышенном риске развития злокачественного процесса [503]. Оценка концентрации фолиевой кислоты в плазме крови не входила в задачи настоящего исследования.

В нашем исследовании в ретроспективной группе у 98 пациенток в течение года после выписки из стационара развились тромботические осложнения (109 без тромботических осложнений). 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, $p < 0,001$) (Рисунок 5.12).

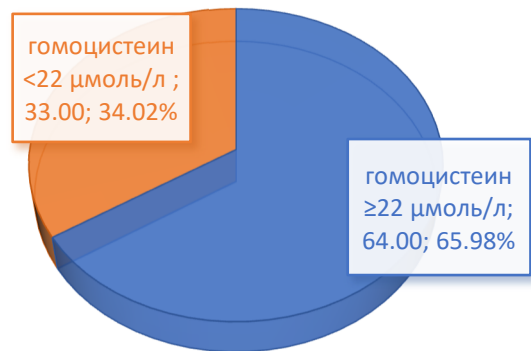
Риск венозной тромбоэмболии согласно данным логистической регрессии был в 2,99 раза выше у пациенток с концентрацией гомоцистеина в плазме крови ≥ 22 $\mu\text{моль/л}$ по сравнению с пациентками с концентрацией гомоцистеина < 22 $\mu\text{моль/л}$ (95% ДИ: 1,11-8,08) [176]. Концентрация гомоцистеина в плазме крови онкогинекологических пациенток, как свидетельствуют результаты исследования, является независимым фактором риска венозной тромбоэмболии.

Средние показатели концентрации гомоцистеина в плазме крови оказались достоверно выше у онкогинекологических пациенток с выявленными полиморфизмами генов ферментов фолатного цикла, чем у пациенток в полиморфизмами в контрольной группе ($p < 0,05$) [176]. 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.

ПАЦИЕНТКИ БЕЗ ТРОМБОЗОВ N-109



ПАЦИЕНТКИ С ТРОМБОЗАМИ N-98



КОНТРОЛЬНАЯ ГРУППА N-50

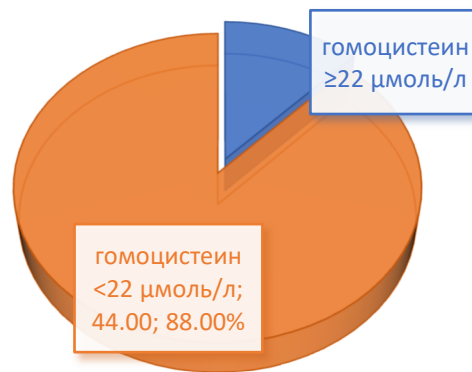


Рисунок 5.12 – Гипергомоцистеинемия у пациенток ретроспективной и контрольной групп

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. Если, учитывая возможный вклад гипергомоцистеинемии в развитие эстроген-зависимого рака, то контроль концентрации гомоцистеина и терапия фолатами способны предотвращать рецидивы, обусловленные влиянием эндогенных эстрогенов, в частности у молодых онкогинекологических пациенток.

Среди ряда других механизмов патогенеза гиперкоагуляции при раке антифосфолипидные антитела (АФА) занимают важное место. Они представляют собой группу аутоантител, взаимодействующих с белками организма на клетках

эндотелия. АФА-опосредованный механизм патогенеза тромбоза включает воспалительный компонент. Присутствия АФА недостаточно для инициации значимого тромбоза. Всегда необходимы дополнительные факторы риска, в роли которых могут выступать провоспалительные и прокоагулянтные состояния, такие как системное воспаление, тяжелый сепсис или обширные оперативные вмешательства у пациентов с циркулирующими АФА. Пациенты с онкологическими заболеваниями склонны к тромбозам, а также к септическим состояниям, подвергаются хирургическим вмешательствам и другим агрессивным методам лечения, которые сами по себе обладают провоспалительными и прокоагулянтными эффектами. Учитывая сложное взаимодействие между иммунной системой, системой гемостаза и воспалением, можно выдвинуть гипотезу о том, что АФА способствуют развитию тромботических состояний и органной дисфункции у онкологических пациентов. Истинная распространенность АФА в общей популяции в связи с отсутствием популяционных исследований до сих пор неизвестна. В проспективном исследовании здоровых доноров крови было показано, у 10% из них циркулировали АФА, а у 1% определялся ВА. Более того, в течение одного года наблюдения по-прежнему циркулировали АФА у менее 1% этих доноров [504]. У онкологических больных циркуляция АФА варьирует от 1,4% до 74% [505]. Роль АФА в тромбообразовании у онкологических больных, в настоящее время, остается недостаточно изученной. Предполагается, что имеет место иммуноопосредованный тромбоз как реакция на иммунотерапию, системный воспалительный ответ на фоне злокачественного новообразования или опухолевые антигены [177]. Кроме того, у онкологических больных выявлен и катастрофический антифосфолипидный синдром (КАФС) – состояние, которое приводит к летальному исходу на фоне тромбообразования и полиорганной недостаточности. 16% из 500 пациентов с КАФС, как показал анализ международного реестра КАФС, имели онкологические заболевания, в основном лейкоз и лимфомы [190].

Нет результатов крупных хорошо спланированных исследований в настоящее время для определения распространенности антифосфолипидных

антител и их влияния на частоту у онкологических больных тромботических осложнений. В настоящем исследовании мы провели оценку распространенности антифосфолипидных антител в ретроспективной группе онкогинекологических пациенток, а также оценили частоту встречаемости анти-бета-2-гликопротеина 1 в проспективной группе и возможную взаимосвязь антифосфолипидных антител с маркерами тромбовоспаления.

В проведенном нами исследовании выявлено достоверное повышение частоты циркуляции АФА (ВА, суммарных АКЛ и суммарных антител к бета-2-гликопротеину 1) у онкогинекологических пациенток по сравнению с контрольной группой: из 207 онкогинекологических пациенток АФА определялись у 72 (34,7%), в контрольной группе (n=50) – у 4 (8%), при $p < 0,001$. К сожалению, анализу подверглись только показатели «критериальных» антител, так как «некритериальные» антитела (антитела к аннексину 5, протромбину) были определены не у всей выборки пациенток. Распространенность АФА в нашем исследовании коррелирует с данными предыдущих исследований – 10% – 24% [382].

Частота выявления антифосфолипидных антител в подгруппе с тромбозами была выше 43 (43,9%), чем в подгруппе без тромбозов – 29 (26,6%), $p < 0,001$ (Рисунок 5.13). У трех пациенток в подгруппе с тромбозами выявлены одновременно три типа изучаемых антител (трипл-позитивные) – 3 (3,1%), дабл-позитивные пациентки (с циркуляцией двух видов из трех изучаемых антител) чаще встречались в подгруппе с тромботическими осложнениями – 7 (7,1%), чем без них 2 (1,8%).

Патогенез связи между раком и антифосфолипидными липидными антителами изучался в нескольких исследованиях. Исследования показали, что у онкологических пациентов с тромботическими осложнениями выше распространенность АФА (8,0%) по сравнению с онкобольными без тромбоза (1,4%) и здоровой контрольной группой (0,4%) [506]. Различия между результатами исследований могут быть объяснены дизайнами исследований,

методами определения АФА, характеристиками изучаемой популяции и выбором контрольной группы.

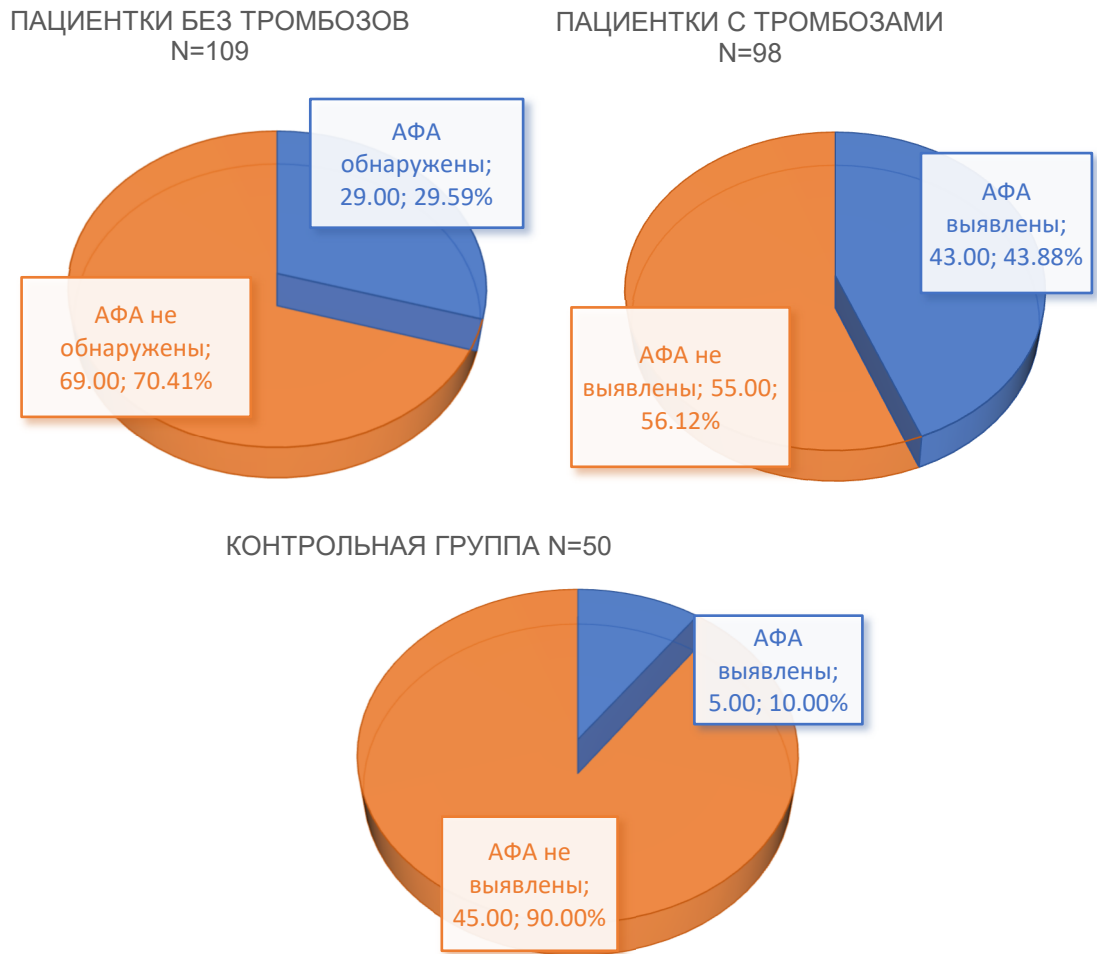


Рисунок 5.13 – Частота выявления антифосфолипидных антител у онкогинекологических пациенток с тромбозами и без и пациенток контрольной группы

В данном исследовании число трипл-позитивных пациентов было крайне низким. В нескольких исследованиях сообщалось о разнице в подтипах АФА, выявляемых преимущественно у тех или иных онкологических больных [505, 507]. В недавнем систематическом обзоре сообщалось, что пациенты при раке желудочно-кишечного тракта, раке мочеполового тракта и раке легкого чаще имеют в циркулирующей крови антикардиолипиновые антитела. В проведенном нами исследовании чаще всего выявлялась циркуляция волчаночного

антикоагулянта: в подгруппе с тромбозами – 31 (31,6%), в подгруппе без тромбозов – 16 (14,7%).

АФС является одной из хорошо известных в настоящее время приобретенных иммуноопосредованных причин тромбоэмболии. Однако точный патогенез того, как и почему продуцируются АФА при раке, до сих пор неизвестен. АФА может продуцироваться как результат гуморального иммунного ответа на опухолевый антиген [508]. Синтез АФА повышается при росте опухоли за счет неадекватного апоптоза и избыточной пролиферации опухолевых клеток [177]. При апоптозе выставление фосфатидилсерина на внешней мембране клеток способствует синтезу аутоантител, которые распознают поверхностные эпитопы, состоящие в основном из гликопротеина $\beta 2$ I и фосфолипидов.

В проведенном нами исследовании как у онкологических пациенток с тромбозами, так и без тромбозов частота выявления АФА росла с увеличением стадии заболевания. В подгруппе онкогинекологических пациенток с тромбозами (n=98) частота циркуляции АФА на 1 стадии составила 8 (28,6%), на 2 стадии – 16 (38,1%), на 3 стадии – 19 (67,9%), а в подгруппе пациенток без тромботических осложнений (n=109) частота циркуляции АФА на 1 стадии составила 8 (19,0%), на 2 стадии – 11 (25,0%), на 3 стадии – 10 (43,5%), при $p < 0,001$ (Рисунок 5.14).

У онкогинекологических пациенток обеих подгрупп АФА выявлялись достоверно чаще при наличии отдаленных метастазов (Рисунок 5.15).

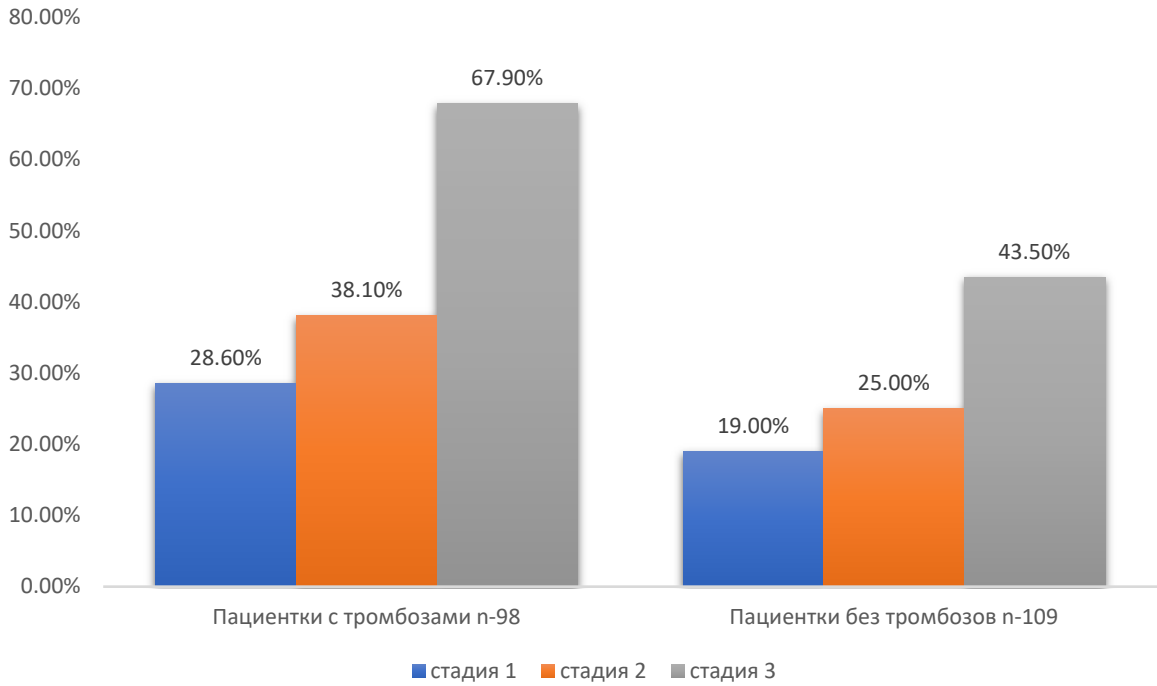


Рисунок 5.14 – Различия частоты встречаемости АФА в зависимости от стадии заболевания в подгруппах пациенток с тромбозами (n=98) и без (n=109)

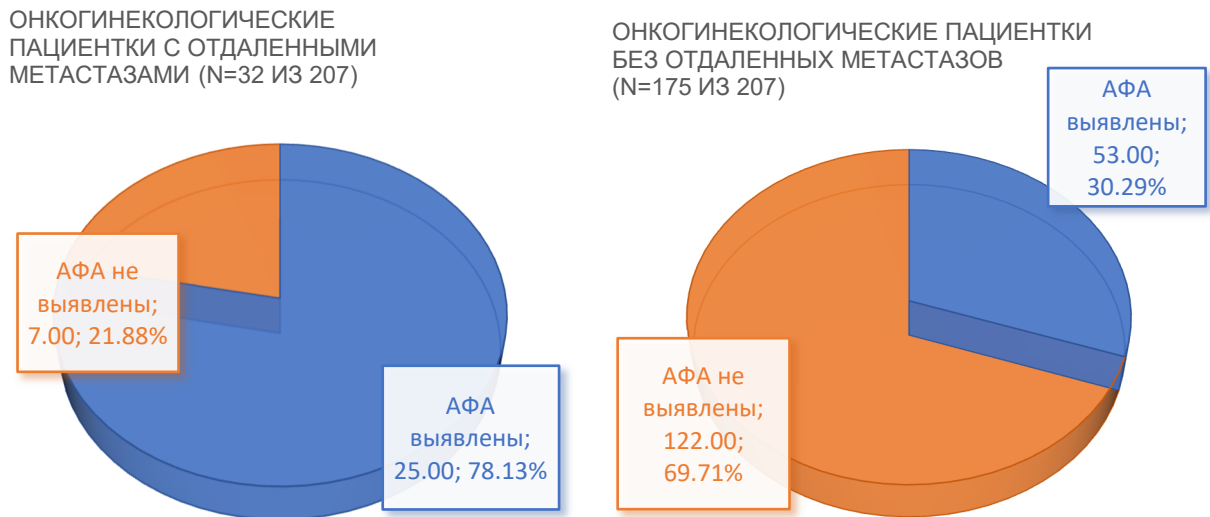


Рисунок 5.15 – Циркуляция АФА у онкогинекологических пациенток (n=207) в зависимости от наличия (n=32) либо отсутствия (n=175) метастазов

Полученные данные безусловно 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 при разных нозологических формах и источниках опухоли.

5.3 Биомаркеры гемостаза и стратегия оценки риска тромбоза, прогрессии опухоли и метастазирования

Рудольф Вирхов в 1856 г. впервые заговорил о триаде ведущих к тромбозу процессов: гиперкоагуляция, нарушение микроциркуляции и повреждение эндотелия [509]. Одновременно все три фактора, предрасполагающих к тромбообразованию присутствуют у онкологических больных. За счет объемной компрессии сосудов опухолевые массы способствуют нарушению микроциркуляции. Большую роль в терапии онкологических заболеваний играет хирургическое вмешательство, обширная циторедукция, с длительной иммобилизацией, внутривенной катетеризацией и последующей химиотерапией. Свой вклад в нарушение циркуляции крови также вносит и иммобилизация. Некоторые виды опухолей, как известно конца XIX века, связаны с особо повышенным риском тромбоза. Генетические характеристики опухоли, например, наличие мутации в *Kras* при опухолях легких и толстой кишки, связаны с повышенным риском ВТЭ [510, 511]. Также связана с повышенным риском ВТЭ часто встречающаяся у пациентов с миелопролиферативным раком мутация *JAK2 V617F* [4, 512, 513].

Тромбоз сам по себе является у онкологических больных независимым предиктором снижения выживаемости, а тромботические осложнения есть отражение неэффективности проводимой терапии, агрессивного типа опухоли и прогрессии опухоли. За счет лежащего в основе протромботического индивидуального профиля пациента риск тромботических осложнений

неоднороден. Протромботический индивидуальный профиль онкологического пациента складывается из таких факторов, как пол, возраст, гистологический тип опухоли, стадия заболевания, характер проводимой противоопухолевой терапии, сопутствующие заболевания, показатели биомаркеров системы гемостаза и тд. [4].

К биомаркерам системы гемостаза относят гетерогенную группу лабораторных параметров, клеток и биологических молекул, которые отражают активность процессов активации тромбоцитов и клеток эндотелия, реакций свертывания и фибринолиза. О прогностической значимости показателей системы гемостаза у онкологических пациентов свидетельствует большое количество проведённых исследований. Биомаркеры системы гемостаза у онкологических пациентов эффективны в прогнозировании ответа на противоопухолевую терапию, выживаемости без прогрессирования, общей выживаемости и безрецидивной выживаемости (риска рецидива после радикального хирургического лечения) [4, 514, 515].

Д-димер является стратегическим маркером активации системы свертывания и фибринолиза [516]. Оценка значения показателя Д-димера эффективна при низкой вероятности тромбоэмболии. Низкие значения показателя исключают тромбоз, а высокие предполагают наличие тромбоза, но не дают окончательного ответа. В персонализированном прогнозировании риска развития рак-ассоциированного тромбоза оценка показателя концентрации Д-димера эффективна, как и при прогнозировании ответа на терапию при различных видах опухолей и выживаемости [4, 517-519].

В крупном проспективном обсервационном когортном исследовании, в которое вошли пациенты с впервые выявленным раком или рецидивом рака изучалась значимость для прогноза выживаемости оценки показателя концентрации Д-димера. Высокие концентрации Д-димера на старте исследования, как было показано, вне зависимости от пола, возраста, типа опухоли и тромбоэмболических осложнений за период наблюдения явились независимыми прогностическими факторами повышенного риска смертности [517]. Большой метаанализ, включающий 49 исследований, показал зависимость между исходами

у 13 001 онкологических пациентов и концентрацией Д-димера. Исследования, вошедшие в метаанализ, различались по пороговым значениям биомаркера, видам лечебных учреждений, дизайну и типам опухолей, однако, несмотря на это независимая прогностическая ценность Д-димера была доказана [4, 518].

Концентрацию тромбина в плазме крови отражает показатель концентрации комплексов тромбин-антитромбин. О возможностях использования показателя для прогнозирования ответа на проводимую терапию и выживаемости свидетельствуют ограниченные данные. В проспективном когортном исследовании высокие концентрации F1+2, фибрин мономеров и ТАТ достоверно отражали повышенный риск смертности [4, 520].

В проспективной группе проведенного нами исследования показатели концентрации комплексов тромбин-антитромбин и Д-димера были выбраны в качестве маркеров активации гемостаза. Результаты демонстрировали достоверное повышение показателей у всех онкогинекологических пациенток по сравнению с контрольной группой. Повышение при этом зависело от стадии заболевания, значения показателей росли с ростом стадии заболевания (Рисунок 5.16).

В исследовании выявлена корреляция между повышением концентрации ТАТ и концентрации citH3 и MPO: Ag. Возможно, отсутствие корреляции с другим маркером активации гемостаза – Д-димером – связано с тем, что NETs способны стабилизировать тромб и усиливают структурные изменения в фибрине, делая его устойчивее фибринолизе, на фоне чего концентрация Д-димера останется неизменной, а концентрация ТАТ как маркеров, в том числе и тромбинемии, будут повышенными [186]. В группе пациенток после химиотерапии при проведении корреляционного анализа было показано, что показатель отношения VWF:Ag/ADAMTS13:Ag и рост концентрации VWF:Ag достоверно были связаны с ростом концентрации комплексов тромбин-антитромбин.

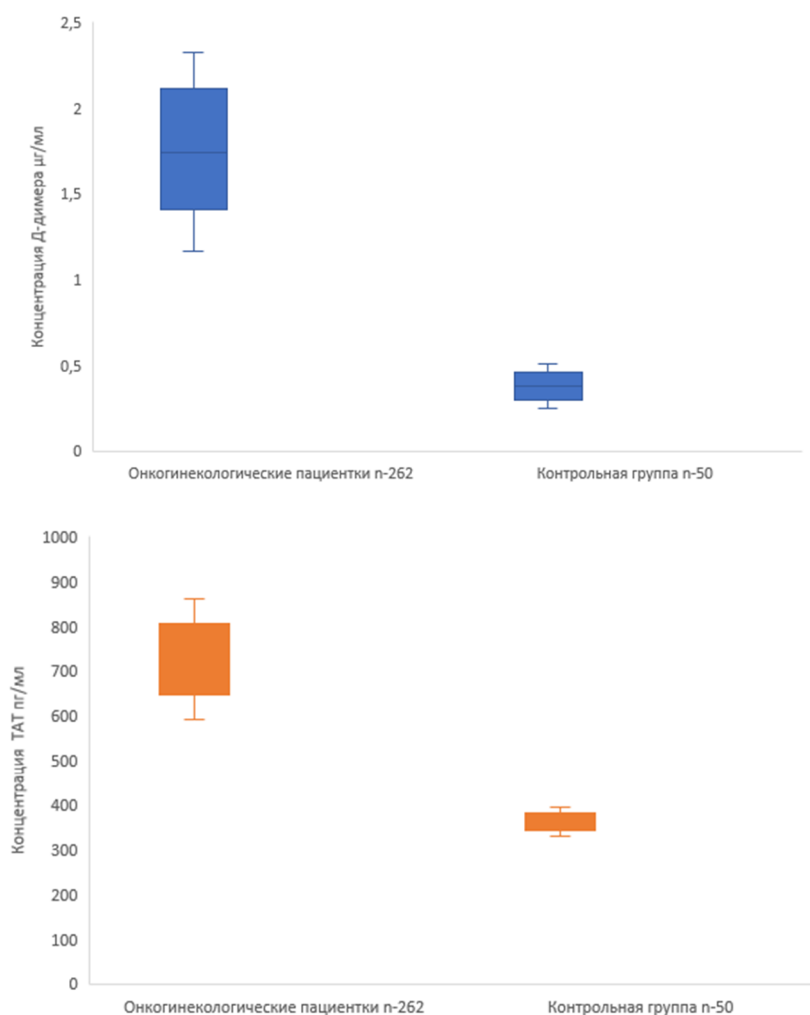


Рисунок 5.16 – Концентрации маркеров активации гемостаза у пациенток контрольной группы и онкогинекологических пациенток проспективной группы

При образовании тромбина формируются фрагменты протромбина F1+2. Их концентрация отражает активность протекающих процессов внутрисосудистого свертывания. Концентрация F1+2 в онкологии отражает риск развития рак-ассоциированного тромбоза. О прогностической роли в отношении выживаемости данного показателя недостаточно данных в настоящее время [4, 514, 521, 522].

Для оценки системной активации системы гемостаза используется тест генерации тромбина, который отражает пиковые значения генерации тромбина и эндогенный тромбиновый потенциал. В нескольких исследованиях было показано, что данный маркер в отношении рак-ассоциированных тромбозов обладает прогностической ценностью. Особенно информативным он оказался при раке молочной железы [4, 514, 522, 523].

Фибриноген представляет собой белок острой фазы, концентрация которого растет при воспалении, опухолевом росте и травме. Для образования фибрина фибриноген является субстратом. В отношении прогнозирования онкотромбозов данные о важности показателя концентрации фибриногена противоречивы. Значение концентрации его используется для прогнозирования ответа на терапию при опухолевом росте и общей выживаемости [514, 522, 524]. В крупном метаанализе, включившем на дотерапевтическом этапе 15 371 онкологических пациента из 52 наблюдательных исследования была проведена оценка прогностической значимости показателя концентрации фибриногена. Более высокие исходные концентрации фибриногена коррелировали со снижением показателей безрецидивной выживаемости. При высоких исходных концентрациях фибриногена смертность оказалась выше (особенно при опухолях головы и шеи, колоректальном раке и почечно-клеточном раке) [4, 525].

PAI-1 является ингибитором фибринолиза. Концентрация PAI-1 отражает риск развития рак-ассоциированного тромбоза и растет при всех типах опухолей. При различных видах рака данный показатель изучается для прогнозирования ответа на терапию и выживаемости. PAI-1 и активатор плазминогена урокиназного типа (uPA) при раке яичников являются предикторами раннего рецидива заболевания, биомаркерами плохого прогноза и выживаемости [526]. У пациенток III и IV стадий рака яичников по FIGO экспрессия uPA и PAI-1 значительно повышена в метастатических очагах в сальник по сравнению с первичной опухолевой тканью [527]. У пациенток при раке яичников или других органов показатели концентрации PAI-1 и uPA, являются индикаторами плохого прогноза, что противоречит классической роли PAI-1 как блокирующего ферментативное действие ингибитора uPA. Данный факт может быть объяснен многовекторностью эффектов PAI-1 и uPA в отношении подвижности клеток, адгезии клеток, клеточной пролиферации и передачи клеточных сигналов. Клинические данные показали, что растущие концентрации uPA и/или PAI-1 при различных солидных опухолях сопутствуют метастазированию опухоли и сопряжены с плохим исходом заболевания [528, 529]. PAI-1 и uPA определяют ответ на адьювантную

химиотерапию у пациенток при раке молочной железы [530]. Определение их первичной опухолевой ткани может влиять на выработку терапевтической тактики [4].

Протеин С и антитромбин III являются ингибиторами каскада свертывания. В оценке выживаемости и эффективности терапии данные об их прогностической ценности ограничены. Система протеина С регулирует активность кофакторов активации фактора X, протромбина и факторов свертывания Va, VIIIa. Активация протеина С происходит на эндотелии при участии рецептор эндотелиального протеина С - комплекса тромбин-тромбомодулин-ЕРСR. Расщепление факторов Va и VIIIa, опосредованное активированным протеином С (APC) происходит с участием фактора V и протеина S на отрицательно заряженных фосфолипидных мембранах. За счет взаимодействия APC с ЕРСR и расщепления PAR-1, APC также обладает антиапоптотической и противовоспалительной активностью. Наиболее распространенными факторами риска венозного тромбоза являются генетические формы дефицита протеина С. В составе комплексной терапии сепсиса APC эффективен за счет его уникальной комбинации антиапоптотических, противовоспалительных и антикоагулянтных свойств [531, 532]. Мутация фактора V Лейден с сопутствующей ей резистентностью к активированному протеину С (APC-R) является одной из видов наследственной тромбофилии [4].

В проведенном нами исследовании были выявлены значительные достоверные различия в обнаружении мутации V Лейден (а также мутации протромбина G20210A) между группами ретроспективных пациенток, у которых после противоопухолевой терапии развились тромботические осложнения и нет. Среди пациенток с тромбозами в проведенном нами исследовании достоверно чаще мутации фактора V Лейден и протромбина G20210A выявлялись на более поздних стадиях заболевания и при наличии отдаленных метастазов. Однако в проведенном 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 была одинаковой как у пациенток с отягощенным анамнезом, так и без

него. Следовательно, сбор анамнеза не всегда бывает эффективен в прогнозировании рисков тромбоза, так как, помимо генетических причин, имеют место и эпигенетических причины, приводящие к тромбозу в каждом конкретном случае у онкогинекологических пациенток.

Возможности определения мутаций фактора V Лейден и протромбина G20210A в настоящее время доступны широким слоям населения. Исследования могут проводиться не только на этапах определения персонифицированного риска при развитии рака, но и быть проведены ранее, к примеру, при неудачах беременности или до назначения оральных контрацептивов или в связи с отягощенным тромботическим анамнезом.

При различных состояниях, таких как беременность, прием менопаузальной гормональной терапии и оральных контрацептивов, при раке на фоне повышенной концентрации факторов свертывания крови, снижения концентрации ингибиторов или наличия аутоантител развивается приобретенная APC-R, что является независимым фактором риска тромбоза. У пациентов со злокачественными новообразованиями с тромбозом и без него встречается часто приобретенная APC-R [533, 534]. При солидных опухолях она обусловлена повышенной концентрацией прокоагулянтных факторов, таких как FVIII [534]. Развитию приобретенной APC-R могут способствовать также и некоторые препараты для химиотерапии. Корреляцию более низких показателей концентрации протеина С с повышением показателя смертности у онкологических пациентов выявили в одном ретроспективном клиническом исследовании [4, 535].

Показатель концентрации фактора FVIII используется в качестве предиктора рак-ассоциированного тромбоза и отражает системную активацию системы свертывания. Однако, в отношении оценки эффективности терапии и выживаемости данные об прогностической ценности его ограничены [4, 514, 522].

P-селектин является одним из перспективных биомаркеров гемостаза в онкологии, но в задачи нашего исследования не входила его оценка. P-селектин выделяется активированными клетками эндотелия и тромбоцитами. При повышенном риске тромбоза у онкологических пациентов отмечены высокие

концентрации Р-селектина, при этом, данный показатель редко используется в качестве биомаркера при раке в настоящее время [521, 522, 536]. На 30% риск смертности возрастает у пациентов с повышенным показателем Р-селектина, согласно данным проспективного когортного исследования [537]. Была выполнена оценка биомаркеров у онкологических больных на фоне химиотерапии в другом проспективном когортном исследовании. Значительно более низкие показатели Д-димера, F1+2 и фибриногена в динамике имели пациенты, достигшие за период наблюдения полной ремиссии, по сравнению с пациентами без полной ремиссии. Не отмечалось подобной закономерности для показателей теста генерации тромбина, Р-селектина и FVIII [4, 538].

Гомоцистеин был также предложен в качестве биомаркера опухолевого роста и рак-ассоциированного тромбоза [203]. Между раком и гомоцистеин-индуцированным ВТЭ существует тесная связь, как показали исследования. На поздних стадиях заболевания у онкологических пациентов развиваются как гипергомоцистеинемия, так и ВТЭ [204]. От общего количества пациентов с ВТЭ пациенты после химиотерапии составляют 13%, и у них в плазме крови отмечены повышенные концентрации гомоцистеина [205]. При оценке распространенности полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла MTR A2756G, MTRR A66G, MTHFR A1298C и MTHFR C677T в проведенном нами исследовании, достоверных различий среди онкогинекологических пациенток и пациенток контрольной группы выявлено не было [176]. Концентрация гомоцистеина превышала 22 $\mu\text{моль/л}$ в 65,3% случаев у пациенток с тромботическими осложнениями (по сравнению с 12% в контрольной группе и 22,9% в группе без тромботических осложнений). На основании полученных данных стоит поставить вопрос об оценке концентрации гомоцистеина в плазме крови в качестве биомаркера тромботического риска у онкогинекологических пациенток.

Антифосфолипидные антитела, безусловно, также могут претендовать на роль биомаркеров гемостаза в прогнозе тромбоза и прогрессии опухоли. Повышенный риск развития злокачественных новообразований имеет место у пациентов при циркуляции АФА [182]. Смертность от онкологических

заболеваний, как показали данные исследований, выше в 2,6 раза при циркуляции антикардиолипидных антител по сравнению с общей популяцией [178, 183]. 13,9% пациентов с АФС в одном из исследований умерли от различного рода злокачественных новообразований [184]. Онкологические заболевания, по данным регистра CAPS, есть у 9% всех пациентов с CAPS [185].

В проведенном нами исследовании у онкогинекологических пациенток АФА определялись в 34,7% случаев, в контрольной группе – у 8%. Частота выявления антифосфолипидных антител в подгруппе с тромбозами составила 43,9%, без тромбозов – 26,6%. Повышается синтез АФА при росте опухоли за счет неадекватного апоптоза и чрезмерной пролиферации опухолевых клеток [177]. При апоптозе выставление на внешней мембране клеток фосфатидилсерина способствует синтезу аутоантител, распознающих поверхностные эпитопы, состоящие из гликопротеина $\beta 2$ I и фосфолипидов.

В проведенном нами исследовании как у онкологических пациенток с тромбозами, так и без тромбозов частота выявления АФА росла с увеличением стадии заболевания. У онкогинекологических пациенток обеих подгрупп АФА выявлялись достоверно чаще при наличии отдаленных метастазов.

Одним из механизмов патогенеза рак-ассоциированного тромбоза является гиперагрегация тромбоцитов, опосредованная VWF [426]. Снижение концентрации ADAMTS13 и рост концентрации фактора фон Виллебранда отмечается у онкологических пациентов, при этом динамика показателей зависит от стадии процесса [416, 418, 539]. С худшей выживаемостью онкологических больных коррелируют данные изменения.

В проведенном нами исследовании средняя концентрация и средняя активность ADAMTS13:Аг среди онкогинекологических пациенток была по сравнению с показателями в контрольной группе достоверно ниже. Превышали показатели контрольной группы и концентрации ингибитора ADAMTS13. У большей части онкогинекологических пациенток, при этом, была повышена концентрация VWF:Аг. Различия в концентрации VWF:Аг выявлены в зависимости от стадий заболеваний, при этом зависимости показателей

ADAMTS13:Аг и ADAMTS13:Ак от стадий заболеваний выявлено не было. Проведена оценка и интегрального показателя, отношения VWF/ADAMTS13. Возможно, использование отношения показателя эффективнее, чем оценка каждого из них по отдельности. Однако в подтверждение этой гипотезы необходимы дальнейшие исследования.

Таким образом, в данном исследовании мы продемонстрировали, что концентрации VWF, ADAMTS13, активность ADAMTS13 и отношение VWF/ADAMTS13 тесно связаны с активацией гемостаза у онкогинекологических пациенток. Модель стратификации риска с включением данных показателей может привести к повышению чувствительности и специфичности прогнозирования ВТЭ и персонализации тромбопрофилактики. В нашем исследовании также были выявлены резкие изменения вышеуказанных показателей у пациенток после химиотерапии по сравнению с группой оперативного лечения. К примеру, у онкогинекологических пациенток до химиотерапии отношение VWF/ADAMTS13 составило 4,39, а после проведения 2 курса химиотерапии – 6,42, несмотря на использование стандартных доз низкомолекулярного гепарина. Помимо этого, мы выявили также взаимосвязь между новыми изучаемыми биомаркерами. Так, с увеличением концентрации МПО:Аг и citH3 повышается концентрация VWF:Аг и снижается ADAMTS13:Аг и ADAMTS13:Ак.

В экспериментах *in vitro* недавно было продемонстрировано образование NETs при раке поджелудочной железы [540]. Циркуляция биомаркера формирования NETs - цитруллинированного гистона H3, по данным исследований, связана у онкологических больных с повышением частоты тромбозов. Другие биомаркеры, такие как нуклеосомы и свободная ДНК, в течение 3–6 месяцев чувствительны к повышению риска тромбозов [541]. Значительный вклад NETs в развитие рак-ассоциированных венозных и артериальных тромбозов, а также влияние на рост опухоли и ее метастазирование показали множество исследований за последние годы, проведенные на экспериментальных моделях опухолей, а также у пациентов с онкологическими заболеваниями [542]. Критическую роль в запуске процесса метастазирования играет привлечение нейтрофилов в

преметастатический участок опухоли [543]. Воспаление связано с прогрессией большинства видов рака [3, 405]. Воспаление принимает участие в канцерогенезе, росте опухоли и метастазировании, подавляет противоопухолевые иммунные реакции, что в целом приводит к росту рецидивов [406].

В проведенном нами исследовании до начала терапии лейкоцитоз был выявлен у 18,3% онкогинекологических пациенток. Для оценки интенсивности нетоза изучению подверглись циркулирующие в плазме крови маркеры нетоза: антиген миелопероксидазы человека и цитруллинированный гистон H3, достоверные различия в концентрации которых были выявлены между основными и контрольной группами. У обследованных пациенток отмечалась неоднородность в концентрации маркеров нетоза в подгруппах при различных источниках опухолей, что свидетельствует о том, что различные опухоли в различной степени способны стимулировать нетоз. В исследовании было показано также, что у пациенток с количеством лейкоцитов до начала терапии в плазме крови более $7 \times 10^9/\text{л}$ концентрация МПО:Аг была значительно выше, чем у пациенток с более низким количеством лейкоцитов менее $7 \times 10^9/\text{л}$. Количество лейкоцитов $> 7 \times 10^9/\text{л}$ коррелировало также со стадией TNM до начала терапии. В проведенном исследовании выявлены достоверные различия в концентрации citH3 гистона в зависимости от стадии заболевания во всех подгруппах онкогинекологических пациенток.

Опухолевые клетки способствуют росту концентрации цитокинов, в частности, ИЛ-8, концентрация которого снижается, например, на фоне проведения химиотерапии, что говорит о его потенциале в качестве биомаркера опухолевого роста. ИЛ-8 может связываться с мембраной нейтрофилов, что способствует их направлению к опухоли. Высокий уровень циркулирующего ИЛ-8 описан в литературе у онкологических пациентов, а более злокачественный фенотип с худшим прогнозом описан при сверхпродукции ИЛ-8 опухолевыми клетками. Нами в проведенном исследовании показано, что на фоне активного нетоза отмечены высокие концентрации циркулирующего ИЛ-8. У пациенток на поздних стадиях заболевания это выражено в большей степени. Возможно, что ИЛ-8 стимулирует

нейтрофилы к образованию NETs и формирует для прогрессии опухоли и метастазирования благоприятные условия.

Данные результаты свидетельствуют о возможности мониторинга риска тромбоза, прогнозирования ответа на терапию и течения заболевания и с помощью динамической оценки на фоне терапии концентрации биомаркеров гемостаза [3].

У онкогинекологических пациенток, а также у пациенток при раке молочной железы учеными всего мира проводятся попытки выбора различных показателей в качестве потенциальных биомаркеров гемостаза рак-ассоциированного тромбоза и прогноза заболевания. Данные 1437 пациентов с опухолями яичников из 15 исследований вошли в метаанализ в котором было показано, что при раке яичников исходно повышенные концентрации Д-димера являются достоверным прогностическим биомаркером высокой смертности [519]. Достоверную зависимость смертности от повышенной исходной концентрации Д-димера выявили в когортном исследовании среди 190 пациентов с эпителиальным раком яичников [544]. В другом исследовании у 26 пациентов на фоне химиотерапии при раке яичников была прослежена динамика показателей СА-125 и Д-димера. Снижение показателей концентрации обоих маркеров, как было показано, является предиктором ремиссии [3, 545].

В когортном исследовании, в которое вошли 942 пациентки с диагнозом рак эндометрия, в послеоперационном периоде была выявлена достоверная зависимость между общей выживаемостью и концентрацией фибриногена до операции. Такие показатели как АЧТВ (активированное частичное тромбопластиновое время), ПВ (протромбиновое время) и концентрации Д-димера и не продемонстрировали прогностической значимости [546]. Концентрация фибриногена до начала терапии в многоцентровом ретроспективном когортном исследовании была оценена как независимый предиктор безрецидивной и общей выживаемости [3, 547].

Исходная концентрация Д-димера, как показали исследования, что у пациенток с диагнозом рак шейки матки является независимым предиктором общей выживаемости [3, 548].

Более низкий риск развития рак-ассоциированных тромбозов по сравнению с другими типами опухолей имеют пациентки со злокачественными опухолями молочной железы [7]. У них отмечается системная активация гемостаза, несмотря на отсутствие тромботических осложнений. В когортном исследовании, с участием 102 пациенток с инвазивным раком молочной железы, до операции концентрация Д-димера коррелировала со стадией заболевания, с наличием лимфоваскулярной инвазии и поражением лимфатических узлов [549]. В когортном исследовании, с участием 235 пациенток на ранних стадиях рака молочной железы, до начала терапии изучалась прогностическая ценность исходных концентраций показателей Д-димера, FVIII, TAT, PAI-1 и F1+2. Со снижением общей выживаемости коррелировали повышенные концентрации FVIII и Д-димера [550]. В еще одном когортном исследовании с участием пациенток со злокачественными опухолями молочной железы, концентрация Д-димера коррелировал напрямую с количеством метастазов, динамиком прогрессии рака и опухолевой нагрузкой. Д-димер, таким образом, был определен как независимый прогностический маркер [551]. В ретроспективном когортном исследовании с участием 102 пациенток с HER-2 положительным раком молочной железы на фоне использования трастузумаба, со степенью дифференцировки опухоли и более низкими концентрациями экспрессии коррелировала исходная повышенная концентрация фибриногена. PTEN представляет собой супрессор опухоли и при раке молочной железы регулирует интенсивность канцерогенеза. Снижению общей и безрецидивной выживаемости соответствовали повышенные концентрации фибриногена [552]. Результаты использования на практике показателей биомаркеров гемостаза для стратификации исходов у пациенток со злокачественными заболеваниями молочной железы продемонстрировало многоцентровое проспективное наблюдательное исследование HYPERCAN [553]. Показатель теста генерации тромбина до начала химиотерапии в когорте из 522 пациенток после оперативного лечения рака молочной железы был включен в модель прогнозирования риска и определен как независимый фактор риска раннего рецидива заболевания [554]. Концентрация F1+2, FVIIa/AT, Д-димера и

фибриногена были оценены в когортном исследовании с участием 701 пациентки со злокачественными опухолями молочной железы до начала химиотерапии. Концентрация F1+2 в исследовании была оценена как независимый предиктор рецидива заболевания [3, 523].

В настоящее время разработано несколько моделей клинического прогнозирования в онкологии. Шкала Khorana – первая и наиболее изученная в оценке риска ВТЭ у онкологических больных. В шкале в качестве предикторов используются лабораторные показатели, такие как концентрация гемоглобина, количество тромбоцитов, лейкоцитов, источник опухоли и индекс массы тела [555]. Однако шкала имеет низкую чувствительность при высокой специфичности, что затрудняет ее внедрение в клиническую практику.

Существуют модификации шкалы Khorana, в которых добавлены или заменены предикторы. Модификации хоть многообещающие, но еще не прошедшие проверку клинической практикой, что диктует необходимость дальнейшего поиска совершенных моделей прогнозирования. В одну из модификаций шкалы Khorana были добавлены два показателя гемостаза – Д-димер и растворимый Р-селектин ((s) Р-селектин) (шкала Vienna). Другой шкалой стратификации риска, основанной на шкале Khorana, является шкала PROTECT. В последней учитывается химиотерапия (цис-/карбоплатин и гемцитабин). Шкала CONKO вместо ИМП включает статус работоспособности ВОЗ, шкала ONKOTEV включает наличие метастазов, лимфоваскулярную компрессию, а также тромботический анамнез [5].

Таким образом, налицо сложность и неоднородность факторов риска у различных онкологических пациентов. Более того, риски даже у отдельно взятого пациента меняются с течением времени. Перспективы создания простой, точной и недорогой шкалы оценки, основанной на статусе пациента, анамнезе и нескольких простых лабораторных показателях равны нулю (Рисунок 5.17).

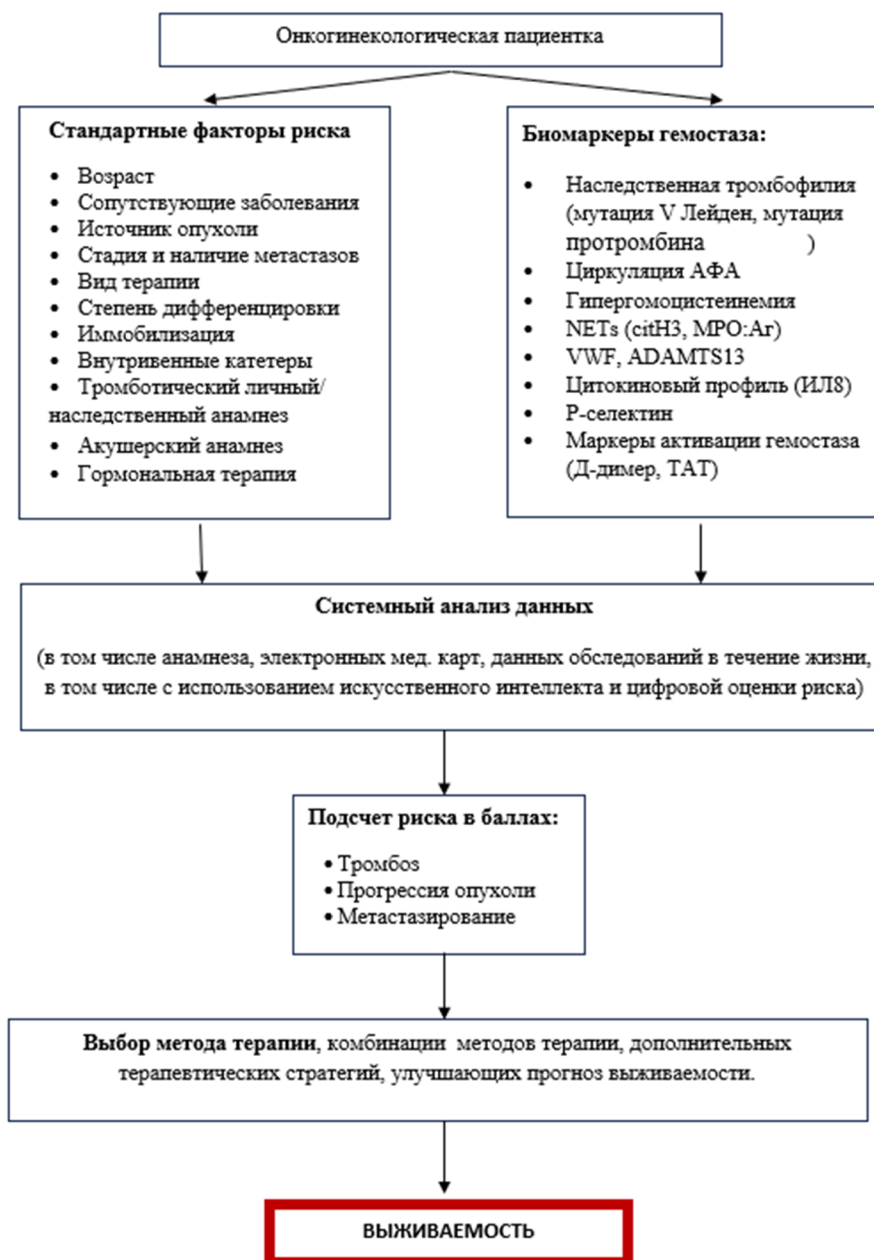


Рисунок 5.17 – Разработка стратегии оценки риска тромбоза, прогрессии опухоли и метастазирования с использованием программного обеспечения и последующим выбором оптимальной тактики ведения пациентки

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 значительно улучшит выбор правильной тактики ведения пациентов.

5.4 Новый взгляд на эффективность низкомолекулярных гепаринов, подходы к терапии в рамках концепции о тромбовоспалении

В проведенном нами исследовании все онкогинекологические пациентки проспективной группы использовали НМГ, дозы и длительность применения которого рассчитывалась на основании стандартных схем. Тромбоз среди исследуемой группы 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. Каковыми бы были результаты наблюдения в случае отсутствия использования противотромботической профилактики остается гадать. Использование низкомолекулярного гепарина у онкологических пациентов значительно улучшает эффективность терапии и исходы лечения. Однако при его использовании есть ряд сложностей, связанных с особенностями самих онкогинекологических пациенток.

При этом действительно ли только антикоагулянтный эффект предопределяет эффективность НМГ? По-видимому, нет.

Ряд фармакодинамических свойств гепаринов продемонстрировали фундаментальные исследования. Эти свойства выводят гепарины за грань антикоагулянтов. Во многом объясняется клиническая эффективность гепаринов у онкогинекологических пациенток. Мишенями для гепаринов являются хемокины, серпины, такие как АТIII, комплекс АТ/фактор Ха, комплекс АТ/фактор IIa, фактор IXa, факторы роста, интегрины, P- и L- селектины, ферменты, в частности эластаза нейтрофилов, белки эндотелия, тромбин, цитокины, система комплемента и цитотоксические медиаторы [255].

Условия использования гепаринов у онкогинекологических пациенток:

- постоянно присутствующая гиперкоагуляция;
- тенденция к развитию гепаринорезистентности;
- высокий риск кровотечений (в том числе из опухоли);
- тромбоцитопения (на фоне химиотерапии, поражений костного мозга, почечной или печеночной недостаточности, лекарственно-индуцированная или гепарин-индуцированная, ДВС-синдром);
- взаимодействия антикоагулянтов с другими лекарственными средствами;
- инвазивные вмешательства;
- плохое питание и/или усвоение пищи;
- первичное или вторичное поражение центральной нервной системы;
- риск падений, переломов и кровотечений на фоне слабости, остеопении и дегенеративных изменений костной ткани.

Антиметастатический эффект гепарина связан с индукцией им выделения клетками TFPI, который сам по себе обладает антиангиогенными и антиметастатическими свойствами. Гепарин влияет на активацию факторов роста ядерного фактора-карра В (NF-κB) и подавляет экспрессию и активность тканевого фактора [280]. В подавлении процесса отложения фибрина вокруг опухолевой клетки заключается еще один антиметастатический эффект гепарина. Это делает клетку незащищенной перед иммунной системой [255, 281]. Гепарин блокирует связывание Р- и L-селектина с лигандами [282]. Модулируя рецепторные взаимодействия хемокин-хемокин, гепарин подавляет клеточную миграцию [283]. Мишенями гепарина являются также CXCR1/2 и CXCL8 [285].

Противоопухолевый эффект гепарина реализуется за счет повышения чувствительности клеток к химиотерапевтическим препаратам [288]. Способность связываться с кофактором гепарина II, концентрация которого в плазме крови пациентов с метастатическими формами рака повышена является одним из возможных механизмов антиметастатического действия гепаринов [255, 289].

Гепарин оказывает влияние на все этапы миграции и экстравазации лейкоцитов. Гепарин, путем связывания с ферментами и провоспалительными

медиаторами, подавляет активацию воспалительных клеток и дальнейшее прогрессирование воспалительного ответа, и повреждение тканей. Он способен связывать хемокины и цитокины, нейтрализовывать эффекты внеклеточных гистонов [273, 301], таких, как катепсин G и эластаза [302], снижая выраженность NETоза, и риск развития тромбоза [37, 255].

Гепарин нарушает взаимодействия клеток путем гепарин-зависимого нарушения экспрессии молекул адгезии и гепарин-зависимого связывания с молекулами клеточной адгезии. Гепарин снижает интенсивность тромбовоспаления вмешиваясь во взаимодействие между тромбоцитами, лейкоцитами и эндотелием. НМГ и НФГ через PAR-1-зависимый механизм влияют на сигнальные пути клетки и снижают реактивность тромбоцитов. Гепарин восстанавливает работу гликокаликса после повреждения на фоне воспаления, положительно влияя на эндотелий [317]. Он привлекает внутриклеточный пул синдекана-1, частично функции синдекана-1 берет на себя и восполняет поверхностную клеточную сеть протеогликанов [318]. Все вышеописанные механизмы действия гепарина и взаимодействия с мишенями свидетельствуют о том, что мы уже используем, пусть и в недостаточных концентрациях и недостаточно по длительности препараты, способные влиять на процессы нетоза у онкогинекологических пациенток, а также на ось ADAMTS13 – VWF (Рисунок 5.18) [255].

Таким образом, 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. Риск гепарин-индуцированной тромбоцитопении является другим неблагоприятным побочным эффектом гепарина. В настоящее время изучаются в качестве антиметастатических агентов. Их противоопухолевая эффективность продемонстрирована в отсутствии влияния на коагуляционный каскад [296]. Было бы оправдано внедрение неантикоагулянтных гепаринов в

клиническую практику возможностью использования больших доз при отсутствии риска развития массивных кровотечений [255].

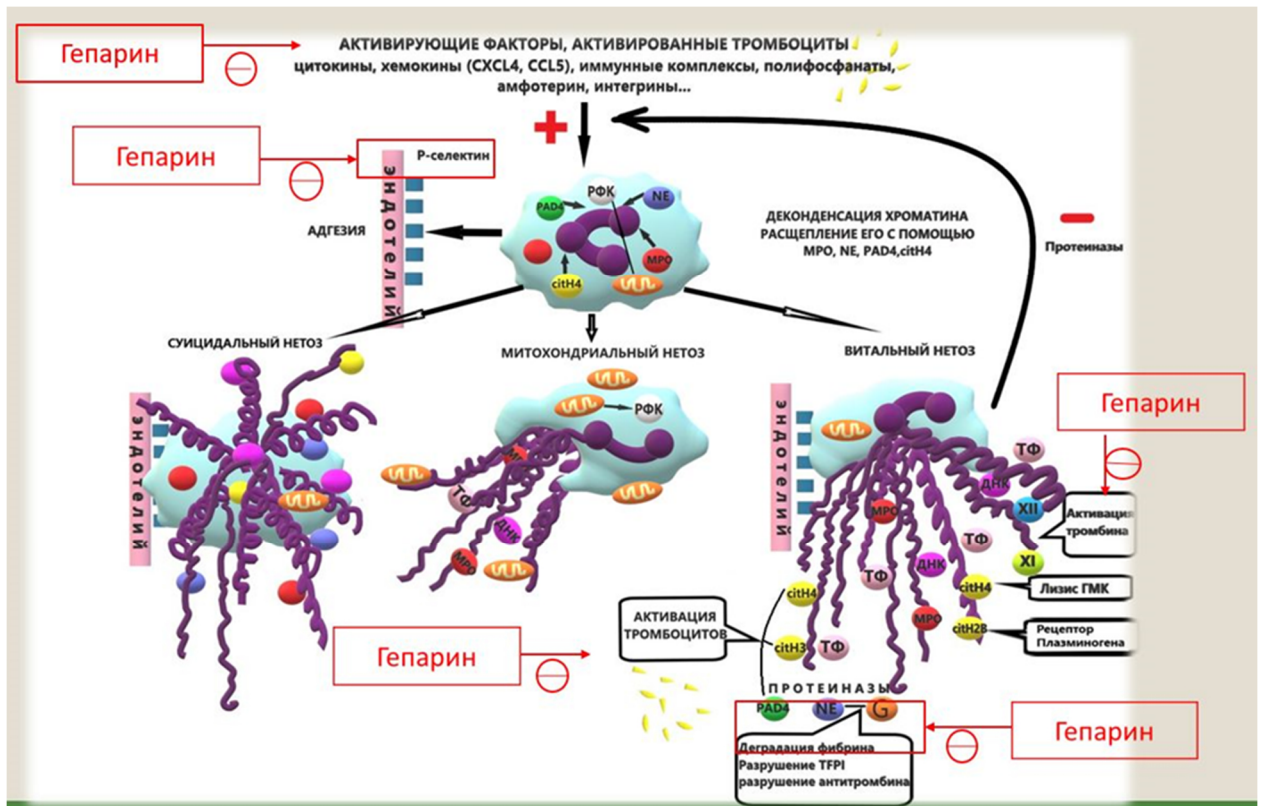


Рисунок 5.18 – Влияние гепарина на нетоз

Говоря о приобретенных формах тромбофилии у онкогинекологических пациенток важное место в исследовании было отведено гипергомоцистеинемии. Несмотря на то, что достоверно не было выявлено повышения частоты встречаемости мутаций и полиморфизмов фолатного цикла среди онкогинекологических пациенток с тромбозами, гипергомоцистеинемия выявлялась у них достоверно чаще [176]. Гомоцистеин обладает богатым протромботическим потенциалом. В плазме крови концентрация гомоцистеина в онкогинекологии является независимым фактором риска венозной тромбоэмболии. Участием в реметилировании гомоцистеина может быть обусловлено влияние фолиевой кислоты на снижение риска тромбоза [176, 556, 557]. При повышении концентрации гомоцистеина происходит нарушение репарации ДНК, что ведет к злокачественному перерождению клеток и хромосомным повреждениям [215].

Важное значение для функционирования нормального генома имеет метилирование ДНК. Таким образом, диагностика гипергомоцистеинемии, мониторинг гомоцистеина у онкогинекологических пациенток, обогащение рациона пациенток фолиевой кислотой и использование соответствующих фолат-содержащих препаратов при ведении онкологических пациентов может оказать значительное влияние на риск тромбоза и, возможно, повлиять на опухолевый рост.

Важную роль в патофизиологии острого ишемического инсульта, основной причины смерти во всем мире, как оказалось, играют NETs и VWF [558]. В тромбах, извлеченных у пациентов с ишемическим инсультом выявлено большое количество активированных нейтрофилов и NETs [559]. Фактор Виллебранда встраивается в фибриновые сети посредством ковалентного сшивания фактором X Ша [560] или тромбин-зависимым образом [561]. VWF и NETs могут привлекать лейкоциты и тромбоциты, способствуя лейкоцитарной инфильтрации и гиперкоагуляции. Взаимодействие NETs-VWF приводит к формированию более стабильной и крупной структуры, привлекающей факторы свертывания и клетки крови в места повреждения сосудов, облегчая взаимодействия между фактором фон Виллебранда, тромбоцитами, лейкоцитами, NETs и фибрином и способствуя развитию иммунотромбоза [388].

В настоящий момент одобрены и применяются два вида терапии острого ишемического инсульта: эндоваскулярная тромбэктомия и тромболизис с использованием t-PA (активатор плазминогена тканевого типа), который способствует деградации фибрина в тромбе за счет активации плазминогена [562]. Однако эндоваскулярное лечение не всегда доступно, а терапия t-PA ограничена узким терапевтическим временным окном (4,5 ч после начала инсульта). Предположительно именно NETs, содержащиеся в тромбах, могут быть одной из причин неэффективности лечения. Профилактика нетоза и подавление его ингибитором PAD4 и ДНКазы I на мышинных моделях способствует поддержанию базального уровня кровотока значительно снижая интенсивность артериального тромбоза [129, 562]. Ингибиторы PAD4 подавляют синтез NETs у мышей и человека [452].

Устойчивые к t-PA тромбы растворяются на фоне инфузии рекомбинационного человеческого ADAMTS13 на мышинных моделях, у них же в головном мозге уменьшаются размеры участков инфаркта [563]. Ориентация на новые мишени при инсульте, VWF и NETs, является потенциально эффективной и многообещающей стратегией внутривенного тромболиза [129].

Учитывая данные проведенного нами исследования, NETs можно рассматривать как новую мишень противотромботической и противоопухолевой стратегии. Разработка новых противоопухолевых и противотромботических необходимо обратить в сторону выявленных новых мишеней. NETоз, как возможная мишень, может быть прерван на разных уровнях. Используя моноклональные антитела и ингибиторы CXCR1/2 возможно нейтрализовать инициацию NETоза хемокинами и цитокинами (например, ИЛ-8). В настоящее время данные препараты проходят клинические испытания [564, 565]. Активация NETоза также происходит под влиянием фермента PAD-4 при цитруллинировании гистона H3. На стадии разработки находятся также и селективные ингибиторы PAD-4 [452]. Как компонент NETs внеклеточная ДНК разрушается с использованием ДНКазы I [566]. Препараты, потенциально снижающие интенсивность NETоза, обладают противоопухолевым действием, поскольку NETs сами по себе способствуют метастазированию и прогрессии опухоли (Рисунок 5.19) [567].

Витамин С, как показали эксперименты на мышах, блокирует NETоз. После стимуляции витамином С активированные нейтрофилы человека также не выделяют NETs. При дефиците витамина С у мышей, напротив, отмечалось повышение интенсивности цитруллинирования гистонов, подавление апоптоза, активация аутофагии, характерные для NETоза [568]. При раке одним из иммунотерапевтических препаратов является вакцина БЦЖ (сокр. от Бацилла Кальмэта – Герэна). Ее эффективность связана с влиянием на подавление миграции опухолевых клеток, блокировку клеточного цикла, индукцию апоптоза, привлечение макрофагов, моноцитов и Т-клеток, а также нетоз [92, 569].

У онкологических больных для оценки выраженности NETоза возможно использование таких прогностически значимых маркеров NETоза, как CitH3, vHDНК и МПО:Аг до и после начала терапии [92, 570].

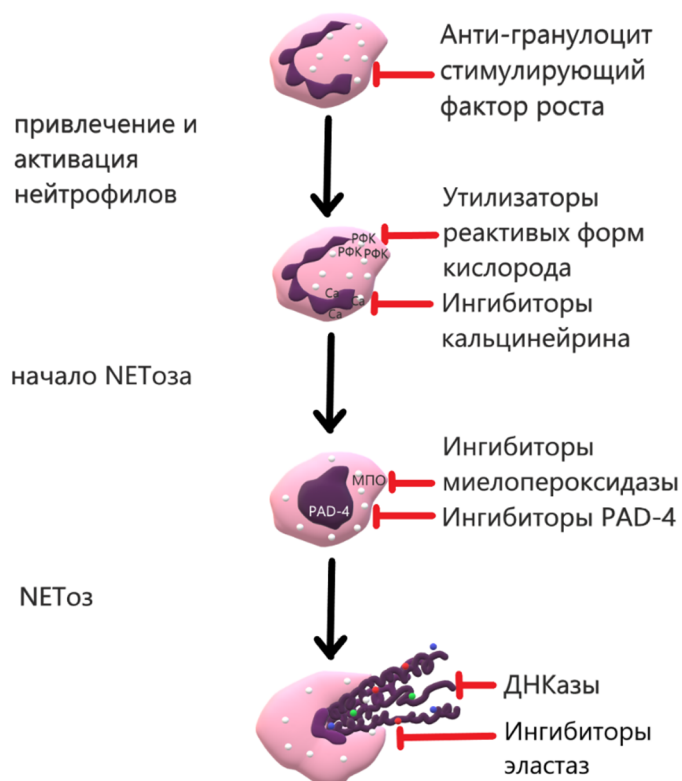


Рисунок 5.19 – Nets как новая мишень терапии. Возможные принципы влияния на нетоз [92]

ДНКаза I и рекомбинантный человеческий ADAMTS13 являются потенциальными терапевтическими агентами при системных тромботических, воспалительных состояниях и ТМА, в том числе и у онкологических больных [129]. У онкологических пациентов в течение нескольких десятков лет ведутся исследования в области изучения эффективности ДНКазы 1 в отношении внеклеточной свободной ДНК [571]. Источником свободной ДНК, ранее считалось, являются разрушенные опухолевые клетки. Повышение концентрации свободной ДНК сопровождается снижением концентрации ДНКазы 1, метастазированием и прогрессией опухоли, как стало известно после открытия NETs и их биологических функций [108, 117]. При раке поджелудочной железы и легкого введение ДНКазы 1 уменьшает интенсивность метастазирования, снижая при этом концентрацию

свободной ДНК, как показали исследования [571]. Здоровым взрослым и детям и введение рекомбинантной ДНКазы не приводит к развитию побочных эффектов при этом [92, 572].

По-новому взглянуть на биологию нейтрофилов и их участие в тромбовоспалении и опухолевом процессе дало возможность открытие внеклеточных ловушек нейтрофилов. У онкологических больных тесное взаимодействие между NETs, опухолевыми клетками и опухоль-ассоциированными нейтрофилами на фоне микроокружения опухоли, как оказалось, лежит в основе эффектов NETs. В онкологии модуляция NETоза потенциально даст возможность снизить показатель смертности [92].

5.5 Клинический случай

Данная пациентка была исключена из исследования ввиду наличия тромбоза в анамнезе и проведения антикоагулянтной терапии на момент начала исследования, однако ее пример является крайне показательным в отношении вклада тромбофилии и тромбовоспаления в риски развития тромботических осложнений у онкогинекологических пациенток.

Пациентка С., 46 лет. (ИМТ - 35) с диагнозом: рак тела матки T1aN0M0, высокодифференцированная аденокарцинома (G1). Лапароскопическая экстирпация матки с придатками, в послеоперационном периоде ТЭЛА. Ишемическая болезнь сердца. Гипертоническая болезнь 2 стадия, 2 степень. Гипотиреоз. Ожирение. Варикозное расширение вен ног.

Менструации с 12 лет, менструальный цикл не установился, 34–46 дней, по 7–8 дней, обильные, болезненные. Беременности 2: самопроизвольные выкидыши (беременности в программе ЭКО) – 2. Гинекологический анамнез: первичное бесплодие на фоне синдрома поликистозных яичников и хронической ановуляции, рецидивирующая гиперплазия эндометрия (ГС и РДВ 5 раз), ВПЧ-носитель, генитальный герпес (рецидивное течение).

Соматический анамнез: ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь, гипотиреоз, варикозное расширение вен ног, ожирение.

Наследственный анамнез: мать – сахарный диабет 2 типа, ИБС, гипертоническая болезнь, ожирение, миома матки, рецидивирующая гиперплазия эндометрия (гистерэктомия в 42 года), отец – смерть в возрасте 44 лет после последовательных 2 инфарктов миокарда, семейный отягощенный анамнез тромботический по линии отца.

У пациентки тромбоз глубоких вен правой нижней конечности произошел после 2 неудачной попытки ЭКО, завершившейся самопроизвольным выкидышем на сроке 9 недель в возрасте 30 лет на 4 сутки в послеоперационном периоде. Профилактика тромботических осложнений в периоперационный период не проводилась. Консервативная терапия тромбоза – антикоагулянты и компрессионный трикотаж. В постоянном режиме далее принимала варфарин под контролем показателя МНО.

После первой гистероскопии и выскабливания полости матки на фоне маточного кровотечения (железистая гиперплазия эндометрия) и терапии дидрогестероном в 33 года произошел второй тромбоз глубоких вен. Дидрогестерон отменен. Продолжен прием варфарина под контролем показателя МНО.

Гормональная терапия рецидивирующей гиперплазии далее не проводилась, от введения в полость матки ВМС «Мирена» воздерживались, при этом за период с 32 по 45 лет проведено 5 гистероскопий с отдельным диагностическим выскабливанием, трижды получено гистологическое заключение – простая железистая гиперплазия эндометрия, один раз сложная гиперплазия эндометрия и в 45 лет – высокодифференцированная аденокарцинома. Проведено оперативное лечение в плановом порядке с диагнозом «рак тела матки T1aN0M0, высокодифференцированная аденокарцинома G1» в объеме лапароскопии, экстирпации матки с придатками. В гистологическом ответе подтверждены очаги высокодифференцированной аденокарциномы. По шкале Carini проводилась оценка рисков тромботических осложнений на дооперационном этапе (10 баллов), согласно которой был установлен высокий риск и пациентка переведена до

госпитализации с варфарина на низкомолекулярный гепарин. В качестве профилактики тромботических осложнений в стационаре использовались адекватная водная нагрузка, эластическая компрессия вен ног, ранняя активизация, низкомолекулярный гепарин (эноксапарин) в дозе 60 мг за 12 часов до операции и далее 1 раз в сутки. Несмотря на проводимую тромбопрофилактику на 3 сутки послеоперационного периода у пациентки появились давящие боли за грудиной, кратковременно полуобморочное состояние, учащенное сердцебиение и сильная одышка. Лабораторные показатели: фибриноген – 5,2 г/л, РФМК – 15,0 мг/%, Д-димер – 2100 нг/мл, АЧТВ – 26, ПИ – 88 %, тропонин – 0,086 нг/мл. По результатам рентгенографии ОГК гемодинамика малого круга кровообращения не нарушена. В легких признаки хронического бронхита, ТЭЛА мелких ветвей нижней доли правого легкого, тень сердца увеличена влево. Аорта плотная. По данным ЭХОКГ: камеры не расширены. Умеренная легочная гипертензия. Гипертрофия МЖП. Расширен выходной тракт ПЖ. Движение МЖП – характерно для перегрузки ПЖ объемом. Сократительная функция ПЖ снижена, ЛЖ в норме. Правые камеры сердца расширены по сравнению с левым. По данным ЭКГ имелись признаки перегрузки правых отделов сердца. Неполная блокада правой ножки пучка Гиса. Признаки массивной тромбоэмболии ветвей легочной артерии, более выраженные слева. УЗДГ вен нижних конечностей: признаков тромбоза не выявлено. В условиях отделения анестезиологии и реанимации проводилась терапия прямыми оральными антикоагулянтами, гепарином под контролем АЧТВ, рекомбинантным человеческим тканевым активатором плазминогена. После выписки из стационара терапия прямыми оральными антикоагулянтами продолжена.

Проведена диагностика наследственной и приобретенной форм тромбофилии. Выявлены: мутация V Leiden гетерозиготный вариант, полиморфизмы генов фолатного цикла MTR 2756 A>G, MTRR 66 A>G, MTHFR 677 C>T, гетерозиготные варианты, полиморфизм PAI – I 4G/5G; концентрация гомоцистеина – 24 мкмоль/л, антитела к бета-2-гликопротеину 1 выявлены однократно. В момент нахождения пациентки в стационаре концентрация

миелопероксидазы и CitH3 были резко повышены и составили 12,03 нг/мл и 2,52 нг/мл, соответственно.

Не только онкопроцесс участвовал в патогенезе тромбоза у пациентки, но и циркуляция антифосфолипидных антител, гипергомоцистеинемия и наследственная полигенная тромбофилия. Одновременно с этим у пациентки выявлен выраженный нетоз, который свой вклад вносит как в тромбообразование, так и в прогрессию опухоли. При анализе семейного анамнеза возникает предположение, что мутация фактора V Лейден, могла быть у отца пациентки, а от матери она могла унаследовать полиморфизм гена PAI-I с характерным для него метаболическим синдромом. Выявленные приобретенная и наследственная тромбофилии однозначно сказались в прошлом на протекании ее беременностей, но осталась не диагностированными. Они также не были выявлены и позднее после 2 эпизодов тромбоза глубоких вен ног.

У пациентки с аденокарциномой эндометрия и ТЭЛА в описанном нами клиническом случае однократно выявлены антитела к $\beta 2GP1$ и повышенные концентрации маркеров нетоза. Не ясно, является ли их появление результатом опухолевого роста или они циркулировали и ранее и появились на фоне хронической вирусной (герпетической и ВПЧ) инфекции. У женщин концентрация гомоцистеина в норме составляет 4,6–12,4 мкмоль/л. Гипергомоцистеинемия является известным фактором риска, повышенного тромбообразования. В данном клиническом случае у пациентки с аденокарциномой эндометрия концентрация гомоцистеина была составила 24 мкмоль/л. Были выявлены гетерозиготные варианты полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла MTRR 66 A>G, MTR 2756 A>G и MTHFR C677T. Носительство полиморфизмов фолатного цикла и гипергомоцистеинемия могли лежать в основе либо вносить свой вклад в невынашивание беременности и бесплодие у пациентки, а также тромботические осложнения впоследствии.

Оценка патогенетической роли приобретенных и наследственных тромбофилий в программах ЭКО у пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе показала преобладание мультигенной формы тромбофилии (92%) [573]. Наиболее

распространен в их структуре был полиморфизм гена PAI-I (69,1%) гомо- и гетерозиготный вариант. У 34,5% пациенток выявлена циркуляция антифосфолипидных антител (АФА). Жировой тканью вырабатывается большая часть циркулирующего PAI-I [574]. На фоне ожирения концентрация PAI-I в плазме крови повышена. Между его концентрацией и показателями индекса отношения объема талии/объема бедер и индекса массы тела доказана прямая корреляция, не зависящая от возраста и пола [575]. Наличие ожирения не учитывается в основных шкалах клинической оценки вероятности ТЭЛА, несмотря на его значительную распространенность и многофакторность [576]. Вклад ожирения существенно растет в сочетании с другими факторами риска [577]. Способствуя деградации базальной мембраны и стромы опухоли ингибитор активатора плазминогена 1 вносит большой вклад в прогрессию опухоли [578]. PAI-1 регулирует ангиогенез, рост и инвазию различных типов опухолей [579]. Взаимосвязи различных полиморфизмов гена PAI-I с опухолями разных локализаций выявлены многочисленными исследованиями последних лет [578, 580].

У пациентки, описанной в клиническом случае, первый тромботический эпизод произошел на фоне потери беременности в программе ЭКО в возрасте 30 лет. Несмотря на то, что в нашей стране уже проводилось изучение тромбофилии как основы патогенеза акушерской патологии и тромботических осложнений в акушерстве, скрининг на наследственные и приобретенные формы тромбофилии как причину невынашивания и тромбоза проведен не был. После второго эпизода тромбоза при проведении гистероскопии и отдельного диагностического выскабливания по поводу аномального маточного кровотечения у пациентки с наследственным анамнезом отягощенным личным тромботическим и акушерским анамнезами не было проведено диагностики тромбофилии. Таким образом, вопрос о повсеместном скрининге на тромбофилии у пациентов групп высокого риска тромбозов в настоящее время трудно реализуем.

Продолжительность жизни у данной пациентки будет зависеть не только от эффективности наблюдения у онколога и успешного контроля дозы

антикоагулянта. В стратегию ее введения с учетом выявленных изменений стоит ввести нормализацию веса (физической нагрузки, диета), холин, фолаты и витамины группы В (гипергомоцистеинемия), мониторинг наличия антифосфолипидных антител в плазме крови с коррекцией антитромботической терапии в случае повторного их выявления, метформин, как препарат не только используемый при инсулинорезистентности, но и на фоне присутствия полиморфизма PAI-I способный влиять на гипофибринолиз.

Налицо необходимость разработки четкого регламента обследования и оценки рисков тромбоза у онкологических групп пациенток. Даже при правильном и своевременном использовании у онкологических пациентов имеющих в наличии шкал оценки риска тромбоза, при введении согласно оцененному риску рекомендуемых доз препаратов, не позволяют под контролем держать тромбоз. Вскоре, возможно, появятся и новые стратегии терапии тромбозов и тромбопрофилактики. Именно на увеличение продолжительности жизни у онкогинекологических пациенток направлены все наши усилия. Длительность и качество жизни – цель проводимых исследований. Недопустимо с этой точки зрения игнорирование факта большого вклада тромбофилии и тромбовоспаления в прогноз у онкогинекологических пациенток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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 в исследование включены пациентки как проспективной, так и ретроспективной группы.

Исследование показало, что у онкогинекологических пациенток до старта терапии достоверно повышены концентрации маркеров нетоза (CitH3 и МПО:Аг) по сравнению с контрольной группой. Концентрация МПО: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 $7 \times 10^9/\text{л}$, что свидетельствует о провоспалительном статусе. Количество лейкоцитов $> 7 \times 10^9/\text{л}$ до начала терапии коррелировало со стадией TNM. В концентрации citH3 гистона среди пациенток на стадии I и на стадиях II–III выявлены достоверные различия, что говорит об участии в прогрессии опухоли NETs. У онкогинекологических пациенток наряду с маркерами нетоза была повышена концентрация ИЛ-8. Степень повышения коррелировала со стадией заболевания при этом. ИЛ-8 формирует благоприятные условия для прогрессии опухоли и метастазирования, стимулируя нейтрофилы к нетозу. Следующий вариант взаимодействия при опухолевом росте участников реакций тромбовоспаления представляется возможным: захват сетями NETs опухолевых клеток с экранированием их от иммунного надзора с последующей экспрессией опухолью ИЛ-8, последующим привлечением большого количества нейтрофилов и дальнейшей активацией нетоза.

Внеклеточные ловушки нейтрофилов обладают способностью вызывать тотальную дисрегуляцию системы гемостаза, в результате которой усиливается протромботическое состояние, характерное для опухолевого роста. В исследовании было показано, что у онкологических пациенток по сравнению с контрольной группой повышены маркеры активации гемостаза – комплексы Д-димер и ТАТ. При

этом между повышением концентрации комплексов тромбин-анти тромбин и концентрации citH3 и MPO:Ag выявлена достоверная корреляция. Отсутствие корреляции между повышением концентрации маркеров нетоза и Д-димером, возможно, связано с тем, что NETs усиливают структурные изменения в фибрине, делая его устойчивее к фибринолизу, а значит, и к росту продуктов этого фибринолиза – Д-димеров.

В последние годы все больше уделяется внимания функционированию оси ADAMTS13/VWF, не только в онкологии, но и в акушерстве, при неотложных состояниях и даже во время прошедшей пандемии COVID-19. Концентрации VWF, ADAMTS13, активность ADAMTS13 и отношение VWF/ADAMTS13 тесно связаны с активацией гемостаза у онкогинекологических пациенток. У онкологических пациенток по сравнению с контрольной группой концентрация ADAMTS13:Ag до начала терапии была ниже, высокой была концентрация фактора Виллебранда. В зависимости от вида проводимой терапии у онкогинекологических пациенток показатели оси менялись. Концентрация ADAMT-13:Ag была достоверно ниже у пациенток после 2 курсов химиотерапии по сравнению с пациентами после оперативного лечения. В связи с токсическим действием большинства препаратов для химиотерапии на эндотелий по сравнению с группой пациентов после оперативного лечения концентрация фактора фон Виллебранда повысилась достоверно больше. На фоне химиотерапии показатель отношения VWF/ADAMTS13 рос. Не только токсическое действие препаратов, но и активный нетоз приводили к росту показателя концентрации VWF:Ag и снижению показателей ADAMTS13:Ag и ADAMTS13:Ак. Наиболее выражено зависимость продемонстрирована в подгруппе пациенток «рак яичников». Одним из возможных механизмов является подавление ADAMTS13:Ак путем реакций цитруллинирования, протеолиза и окисления с участием NETs, или конкурентного связывания внеклеточными ловушками нейтрофилов субстрата A2 VWF. Эти процессы приводят к росту концентрации VWF и образованию мультимеров с последующим тромбозом. Замыкается порочный круг, где NETs зависимый дефицит ADAMTS13 приводит к образованию мультимеров, которые, привлекают

и присоединяют к стенке сосуда больше активированных тромбоцитов, нейтрофилов и компонентов NETs, усугубляя тромбоз и воспаление. 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 ADAMTS13/VWF – отношения VWF/ADAMTS13.

При динамической оценке концентрации маркеров NETs и маркеров активации гемостаза у пациенток на фоне проведения курсов химиотерапии, по сравнению с пациентками после оперативного лечения, было показано, что химиотерапия по сравнению с оперативным лечением приводит к еще более выраженному росту показателей у онкогинекологических больных. Последующее использование низкомолекулярного гепарина демонстрировало остановку роста показателей и даже их снижение, которое было выявлено в большей степени (недостаточный уровень значимости показателей) в абсолютных средних значениях у пациенток, которые после 2 курса химиотерапии использовали комбинацию НМГ + аспирин. Таким образом, NETоз является одним из процессов, которые при проведении химиотерапии лежат в основе протромботического состояния, а также NETоз является возможной причиной резистентности к химиотерапии. Полученные результаты следует интерпретировать с осторожностью из-за гетерогенности исследуемых групп. Для подтверждения эффективности использования аспирина у онкологических пациентов и в качестве профилактики возникновения и прогрессии онкологических заболеваний необходимы крупные рандомизированные контролируемые исследования.

В исследовании выявлено достоверное повышение частоты циркуляции АФА (ВА, суммарных АКЛ и суммарных антител к бета-2-гликопротеину 1) у онкогинекологических пациенток по сравнению с контрольной группой. Частота выявления антифосфолипидных антител в подгруппе с тромбозами была выше, чем

в подгруппе без тромбозов, $p < 0,001$. Частота выявления АФА росла с увеличением стадии заболевания и была повышена при наличии отдаленных метастазов. Антифосфолипидные антитела, которые широко известны как маркеры приобретенной формы тромбофилии – антифосфолипидного синдрома, а также довольно часто определяющиеся у онкологических пациентов, могут также стимулировать нетоз, который в дальнейшем стимулирует синтез антифосфолипидных антител, замыкая очередной порочный круг.

Большие разногласия имеют место в литературе относительно наследственных форм тромбофилии и ее вклада как в протромботическое состояние у пациенток при раке, так и в опухолевый рост. В проведенном нами исследовании достоверно чаще выявлялись мутации V Лейден и протромбина G20210A в группе ретроспективных пациенток, с тромботическими осложнениями, частота встречаемости мутации MTHFR C677T достоверно повышена не была. Несмотря на то, что непосредственной роли FV в канцерогенезе ранее не выявлено и снижение выживаемости у онкологических пациентов с мутацией, вероятнее всего, связано с образованием тромбина. 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. Данный факт может свидетельствовать о вкладе этих генетических поломок в канцерогенез и прогрессию опухоли. При оценке распространенности полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTRR A66G и MTR A2756G достоверных различий у пациенток с тромботическими осложнениями и без выявлено не было. Средняя концентрация гомоцистеина была повышена у всех онкогинекологических пациенток. У пациенток с тромботическими осложнениями в 65,3% случаев концентрация гомоцистеина превышала 22 $\mu\text{моль/л}$, что делает этот показатель кандидатом на звание маркера тромботических осложнений при раке. При этом средние показатели концентрации гомоцистеина в плазме крови оказались достоверно выше у онкогинекологических пациенток с выявленными полиморфизмами генов ферментов фолатного цикла, по сравнению с пациентками

с полиморфизмами в контрольной группе ($p < 0,05$). Этим подтверждается 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.

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 протромботической 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 на этом фоне различные виды тромбофилии, как наследственной, так и приобретенной, также 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 ($p < 0,05$), МПО:Аг $15,97 \pm 11,83$ 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, МПО:Аг $29,46 \pm 13,11$ нг/мл) и «рак шейки матки» (CitH3 $2,31 \pm 0,8$ нг/мл, МПО:Аг $21,22 \pm 10,0$ нг/мл).

3. Концентрация маркеров нетоза (МПО:Аг, 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:Аг повышена и коррелирует со стадией заболевания, антиген ADAMTS-13:Аг ($0,40 \pm 0,12$ МЕ/мл) и активность ADAMTS-13:Ак ($0,43 \pm 0,13$ МЕ/мл) у онкогинекологических пациенток достоверно ниже. Максимальные концентрации VWF:Аг выявлены в подгруппе «рак яичников» ($p < 0,0001$). Отношение VWF:Аг/ADAMTS-13:Аг 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 МПО:Аг) и концентрацией VWF:Аг ($\rho = 0,80$, $p < 0,01$), ($\rho = 0,70$, $p < 0,01$) во всех подгруппах. У пациенток подгруппы «рак яичников» концентрация МПО:Аг коррелирует с ADAMTS-13:Ак ($\rho = -0,58$, $p < 0,01$) и ADAMTS-13:Аг ($\rho = -0,60$, $p < 0,01$), а концентрация CitH3

коррелирует с ADAMTS-13:Ак ($\rho=-0,62$, $p<0,01$) и ADAMTS-13:Аг ($\rho=-0,69$, $p<0,01$).

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-антитромбин ($p<0,05$) свидетельствует о выраженной активации системной коагуляции.

7. Динамическая оценка показателей активации нетоза, маркеров активации системы гемостаза и оси ADAMTS-13/VWF по сравнению с исходными до лечения показателями, после второго курса химиотерапии через 14 дней и после оперативного лечения через 14 дней продемонстрировала 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 ($p=0,0001$)), МРО:Аг (до $16,02\pm 4,36$ нг/мл, после $22,76\pm 7,31$ нг/мл ($p=0,0001$)), VWF:Аг ($2,34\pm 0,42$ МЕ/мл ($p<0,05$)), VWF:Аг/ADAMTS-13:Аг $6,42$ ($p<0,05$), ADAMTS-13:Инг $7,28\pm 2,34$ МЕ/мл ($p<0,05$), достоверное снижение ADAMTS-13:Аг ($0,34\pm 0,07$ ЕД/мл ($p<0,05$)) по сравнению с группой оперативного лечения, где достоверных изменений выявлено не было. Рост концентрации VWF и отношения VWF:Аг/ADAMTS-13:Аг 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, использующими 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 МПО:Аг, 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 терапии, что может улучшить прогноз у онкогинекологических пациенток.

3. Наследственная и приобретенная тромбофилия вносит значительный вклад в повышение риска тромботических осложнений у онкологических пациентов и должна быть включена 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 СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- аГУС – атипический гемолитико-уремический синдром
- АКЛ – антикардиолипиновые антитела
- АМК – аномальные маточные кровотечения
- анти- β 2-GPI – анти- β 2-гликопротеин I
- АП – альтернативный путь комплемента
- АПА – антипротромбиновые антитела
- APC – активированный протеин C (activated protein C)
- АТШ – антитромбин III
- АФА – антифосфолипидные антитела
- АФИ – антифосфатидинозитол
- АФС – антифосфолипидный синдром
- АФХ – антифосфатидилхолин
- АФЭ – антифосфатидилэтанолламин
- АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время
- ВА – волчаночный антикоагулянт
- ВкДНК – внеклеточная ДНК
- ВКМ – внеклеточный матрикс
- ВТЭ – венозные тромбоэмболические осложнения
- ГАГ – гликозаминогликаны
- ГИТ – гепарин-индуцированная тромбоцитопения
- Г-КСП – гранулоцит-колониестимулирующие препараты
- ГМ-КСП – гранулоцит-макрофаг колониестимулирующие препараты
- ГСФР – гранулоцит-стимулирующий фактор роста
- ДВС – диссеминированное внутрисосудистое свертывание
- ДУМФ – дезоксиуридина монофосфата
- ИЛ-1 РА – антиген рецептора ИЛ-1
- ИЛ-1 – интерлейкин-1
- КАФС – катастрофический антифосфолипидный синдром

ЛП – лектиновый путь комплемента
MS – метионинсинтаза
MTHFR – метилентетрагидрофолатредуктаза
МАГА – микроангиопатическая гемолитическая анемия
MPO:Ag – антиген миелопероксидазы
НМГ – низкомолекулярный гепарин
НФГ – нефракционированный гепарин
ОАН – опухоль-ассоциированные нейтрофилы
ПВ – протромбиновое время
ПГС – протеогликаны гепарансульфата
ПСЭ – препараты, стимулирующие эритропоэз
РФК – реактивные формы кислорода
СвДНК – свободная ДНК
СЕА – карциноэмбриональный антиген
СКВ – системная красная волчанка
СРБ – С-реактивный белок
СЭФР – сосудисто-эпителиальный фактор роста
ТГВ – тромбоз глубоких вен
ТКИ – тирозинкиназа
ТМА – тромботическая микроангиопатия
ТНФ-альфа – фактор некроза опухоли – альфа
ТТП – тромботическая тромбоцитопеническая пурпура
ТФ – тканевой фактор
ТФРІ – ингибитор пути тканевого фактора
ТФР – тромбоцитарный фактор роста
ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии
ФНО- α – фактор некроза опухоли альфа
ФРФ – фактор роста фибробластов
АССР – American College of Clinical Pharmacy (Американский колледж клинической фармации)

ACE – ангиотензин-превращающий фермент

ADAM – A Disintegrin And Metalloproteinase белки

ADAMTS13 – ADAMTS13 – металлопротеиназа, принадлежащая к семейству пептидазных белков ADAM

antigen (Mac-1) – интегрин-макрофаг 1 антиген (integrin macrophage-1)

APC – активированный протеин C

APC-R – резистентность к активированному протеину C

ASCO – American Society of Clinical Oncology (Американское общество клинической онкологии)

ВНМТ – бетаин-гомоцистеин-S-метилтрансфераза

CEACAM1 – молекула карциноэмбрионального антигена клеточной адгезии 1 (carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule 1)

CLEC-2 – C-type lectin receptor 2, Лектиновый рецептор 2 типа

CPB2 – карбоксипептидаза B2

CXCR1, CXCR2 – хемокиновый рецептор C-X-C Motif Chemokine Receptor 1, 2

CYP4V2 – цитохром (Cytochrome P450 Family 4 Subfamily V Member 2)

DAMPS – молекулярные частицы, связанные с повреждением (damage-associated molecular patterns)

DNMT – ДНК-метилтрансфераза

ЕРСR – рецептор эндотелиального протеина C

ERK – Киназа extracellular signalregulated kinase

ESMO – European Society for Medical Oncology (Европейское общество медицинской онкологии)

F11 – фактор 11

F13 – фактор 13

F3 – фактор 3

F7 – фактор 7

FDA – U.S. Food and Drug Administration

FGB – фибриноген бета

FGG – фибриноген гамма

Gr-MDSC – гранулоцитарные супрессорные клетки миелоидного происхождения (granulocytic myeloid-derived suppressor cells)

Hcy – гомоцистеин

HNPs – пептиды нейтрофилов человека (Human neutrophil peptides)

ICAM-1 – внутриклеточная молекула адгезии-1 (Intercellular adhesion molecule-1)

ITGB3 – интегрин, бета 3 (тромбоцитарный гликопротеин IIIa)

MMP-9 – металлопротеиназа 9

MPO – миелопероксидаза

MTHFD – Метилентетрагидрофолатдегидрогеназа

MTHFR – метилентетрагидрофолатредуктаза

MTR – 5-метилтетрагидрофолат-гомоцистеинметилтрансферазы

MTRR – метионинсинтаза редуктаза

NCAM – нейрональная молекула адгезии neuronal cell adhesion molecule

NCCN – The National Comprehensive Cancer Network

NE – эластаза нейтрофилов

NETs – Neutrophil extracellular trap, внеклеточные ловушки нейтрофилов

NF- κ B – ядерный фактор карра В

p38 – сигнальная молекула

PAD4 – пептидил-аргинин деиминаза 4

PAI-1 – ингибитор активатора плазминогена-1

PAR – активированный рецептор протеазы (protease activated receptor)

PCI – ингибитор протеина С (protein C inhibitor)

PD-(L)1 – лиганд рецептора программируемой клеточной гибели 1

PECAM-1 – тромбоцит-эндотелиальная молекула клеточной адгезии (Platelet endothelial cell adhesion molecule)

PLAT – тканевой активатор плазминогена

PSGL-1 – P-селектин гликопротеиновым лигандом 1 (P-selectin glycoprotein ligand 1)

PTEN – фосфатаза с двойной субстратной специфичностью, продукт гена PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10)

rADAMTS13 – рекомбинантный ADAMTS13

ROS – реактивные формы кислорода (reactive oxygen species)

SAM – S-аденозил-1-метионин

SARS-CoV-2 – Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2

SERPINC1 – ингибиторы сериновых протеаз (serine protease inhibitors, serpin family C member 1)

TCN 2 – Транскобаламин II

TLR4 – толл-подобный рецептор 4

tPA – активатор плазминогена тканевого типа

TYMS – тимидилат синтетаза (Thymidylate Synthetase)

UL-VWF – сверхбольшие мультимеры фактора фон Виллебранда

uPA – активатор плазминогена урокиназного типа

VWF – фактор фон Виллебранда

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность) / Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российский Центр информационных технологий и эпидемиологических исследований в области онкологии; под редакцией А.Д. Каприна [и др.]. – Москва : МНИОИ им. П. А. Герцена – фил. ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2020. – 251 с. – ISBN: 978-5-85502-260-5. – Текст: непосредственный.
2. Trousseau, A. Clinique médicale de l'Hôtel-Dieu de Paris / A. Trousseau. – Tome Premier. – Paris: J.-V. Baillière et fils, 1865. – 772 p. – Текст: непосредственный.
3. Факторы риска тромбозов у онкологических больных / Е.В. Слуханчук, И.О. Бицадзе, А.Г. Тян, 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.
4. 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.
5. Moik, F. Risk prediction for cancer-associated thrombosis in ambulatory patients with cancer: past, present and future / F. Moik, C. Ay, I. Pabinger // Thromb Res. – 2020. – Vol. 191. – Suppl. 1. – P. S3–S11.
6. Cancer-associated venous thromboembolism / A.A. Khorana, N. Mackman, A. Falanga [et al.] // Nat Rev Dis Primers. – 2022. – Vol. 8. – № 1. – P. 11.

7. Venous thromboembolism in cancer patients: a population-based cohort study / F.I. Mulder, E. Horváth-Puhó, N. van Es [et al.] // *Blood*. – 2021. – Vol. 137. – № 14. – P. 1959–1969.
8. Prevalence, characteristics, and risk factors of occult uterine cancer in presumed benign hysterectomy / V.B. Desai, J.D. Wright, C.P. Gross [et al.] // *Am J Obstet Gynecol*. – 2019. – Vol. 221. – № 1. – P. 39.e1-39.e14.
9. Особенности онкологической заболеваемости и смертности трудоспособного населения Москвы / Б.А. Ревич, М.А. Подольная, Е.А. Аксель [и др.] // *Профилактическая медицина*. – 2014. – Т. 17. – № 5. – С. 28–33.
10. Wun, T. Venous thromboembolism (VTE) in patients with cancer: epidemiology and risk factors / T. Wun, R.H. White // *Cancer Investig*. – 2009. – Vol. 27. – Suppl. 1. – P. 63–74.
11. Incidence of venous thrombosis in a large cohort of 66,329 cancer patients: results of a record linkage study / J.W. Blom, J.P. Vanderschoot, M.J. Oostindiër [et al.] // *J Thromb Haemost*. – 2006. – Vol. 4. – № 3. – P. 529–535.
12. Incidence of venous thromboembolism and its effect on survival among patients with common cancers / H.K. Chew, T. Wun, D. Harvey [et al.] // *Arch Intern Med*. – 2006. – Vol. 166. – № 4. – P. 458–464.
13. Falanga, A. Venous thromboembolism in the hematologic malignancies / A. Falanga, M. Marchetti // *J Clin Oncol*. – 2009. – Vol. 27. – № 29. – P. 4848–4857.
14. Noble, S. Epidemiology and pathophysiology of cancer-associated thrombosis / S. Noble, J. Pasi // *Br J Cancer*. – 2010. – Vol. 102. – Suppl. 1. – P. S2–9.
15. Localization of blood coagulation factors in situ in pancreatic carcinoma / M.Z. Wojtukiewicz, M. Rucinska, L.R. Zacharski [et al.] // *Thromb Haemost*. – 2001. – Vol. 86. – № 6. – С. 1416–1420.
16. Gordon, S.G. Cancer cell procoagulants and their role in malignant disease / S.G. Gordon // *Semin Thromb Hemost*. – 1992. – Vol. 18. – № 4. – P. 424–433.
17. Components of the plasminogen-plasmin system in human tumor cell lines / H.C. Kwaan, H.N. Keer, J.A. Radosevich [et al.] // *Semin Thromb Hemost*. – 1991. – Vol. 17. – № 3. – P. 175–182.

18. Bevacizumab promotes venous thromboembolism through the induction of PAI-1 in a mouse xenograft model of human lung carcinoma / N. Chen, M. Ren, R. Li [et al.] // *Mol Cancer*. – 2015. – Vol. 14. – P. 140.
19. Secondary prevention of venous thromboembolic events in patients with active cancer: enoxaparin alone versus initial enoxaparin followed by warfarin for a 180-day period / S.R. Deitcher, C.M. Kessler, G. Merli [et al.] // *Clin Appl Thromb Hemost*. – 2006. – Vol. 12. – № 4. – P. 389–396.
20. Bick, R.L. Cancer-associated thrombosis / R.L. Bick // *N Engl J Med*. – 2003. – Vol. 349. – № 2. – P. 109–111.
21. Grignani, G. Cytokines and hemostasis / G. Grignani, A. Maiolo // *Haematologica*. – 2000. – Vol. 85. – № 9. – P. 967–972.
22. Константинова, М.Ю. Клиническое значение контроля за гемостазом при ведении онкогинекологических больных с тромбозами в анамнезе: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.01 – Акушерство и гинекология; 14.00.14 – Онкология / Константинова Марина Юрьевна; ГОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет» Росздрава. – Москва, 2008. – 115 с.
23. Clinical significance of tumor necrosis factor-alpha and carcinoembryonic antigen in gastric cancer / M.C. Roşu, P.D. Mihnea, A. Ardelean [et al.] // *J Med Life*. – 2022. – Vol. 15. – № 1. – P. 4–6.
24. Злокачественные новообразования, тромбофилия, тромбозы / [А.Д. Макацария и др.]; под ред. А.Д. Макацария. – Москва: Триада-Х, 2008. – 728 с. – ISBN: 5-8249-0144-9. – Текст: непосредственный.
25. Shrihari, T.G. Dual role of inflammatory mediators in cancer / T.G. Shrihari // *Ecancermedicalscience*. – 2017. – Vol. 11. – P. 721.
26. Comparison of Adverse Event Profiles of Tumor Necrosis Factor-Alfa Inhibitors: Analysis of a Spontaneous Reporting Database / T. Wakabayashi, K. Hosohata, S. Oyama [et al.] // *Ther Clin Risk Manag*. – 2020. – Vol. 16. – P. 741–747.
27. Varon, D. Platelets cross-talk with tumor cells / D. Varon, A. Brill // *Haemostasis*. – 2001. – Vol. 31. – Suppl. 1. – P. 64–66.

28. Tissue factor–positive tumor microvesicles activate platelets and enhance thrombosis in mice / J.E. Geddings, Y. Hisada, Y. Boulaftali [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2016. – Vol. 14. – № 1. – P. 153–166.
29. Extracellular vesicles, tissue factor, cancer and thrombosis–discussion themes of the ISEV 2014 Educational Day / C. Gardiner, P. Harrison, M. Belting [et al.] // *J Extracell Vesicles.* – 2015. – Vol. 4. – P. 26901.
30. Distinct pathogenesis of pancreatic cancer microvesicle–associated venous thrombosis identifies new antithrombotic targets in vivo / K. Stark, I. Schubert, U. Joshi [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2018. – Vol. 38. – № 4. – P. 772–786.
31. Geddings, J.E. Tumor-derived tissue factor–positive microparticles and venous thrombosis in cancer patients / J.E. Geddings, N. Mackman // *Blood.* – 2013. – Vol. 122. – № 11. – P. 1873–1880.
32. White blood cell count measured prior to cancer development is associated with future risk of venous thromboembolism–the Tromsø study / K. Blix, H. Jensvoll, S.K. Brækkan, J.B. Hansen // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8. – № 9. – P. e73447.
33. Granger, J.M. Etiology and outcome of extreme leukocytosis in 758 nonhematologic cancer patients: a retrospective, single-institution study / J.M. Granger, D.P. Kontoyiannis // *Cancer.* – 2009. – Vol. 115. – № 17. – P. 3919–3923.
34. Circulating levels of DNA-histone complex and dsDNA are independent prognostic factors of disseminated intravascular coagulation / J.E. Kim, N. Lee, J.Y. Gu [et al.] // *Thromb Res.* – 2015. – Vol. 135. – № 6. – P. 1064–1069.
35. Interferon lambda1/IL-29 and inorganic polyphosphate are novel regulators of neutrophil-driven thromboinflammation / A. Chrysanthopoulou, K. Kambas, D. Stakos [et al.] // *J Pathol.* – 2017. – Vol. 243. – № 1. – P. 111–122.
36. Neutrophil extracellular traps kill bacteria / V. Brinkmann, U. Reichard, C. Goosmann [et al.] // *Science.* – 2004. – Vol. 303. – № 5663. – P. 1532–1535.
37. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo / M.L. von Brühl, K. Stark, A. Steinhart [et al.] // *J Exp Med.* – 2012. – Vol. 209. – № 4. – P. 819–835.

38. Neutrophil extracellular traps promote deep vein thrombosis in mice / A. Brill, T.A. Fuchs, A.S. Savchenko [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2012. – Vol. 10. – № 1. – P. 136–144.
39. Tumor-derived exosomes induce the formation of neutrophil extracellular traps: implications for the establishment of cancer-associated thrombosis / A.C. Leal, D.M. Mizurini, T. Gomes [et al.] // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7. – № 1. – P. 6438.
40. Brinkmann, V. Neutrophil Extracellular Traps in the Second Decade / V. Brinkmann // *J Innate Immun.* – 2018. – Vol. 10. – № 5–6. – P. 414–421.
41. Histones stimulate von Willebrand factor release in vitro and in vivo / F.W. Lam, M.A. Cruz, K. Parikh, R.E. Rumbaut // *Haematologica.* – 2016. – Vol. 101. – № 7. – P. e277–279.
42. CXCR1 and CXCR2 chemokine receptor agonists produced by tumors induce neutrophil extracellular traps that interfere with immune cytotoxicity / Á. Teixeira, S. Garasa, M. Gato [et al.] // *Immunity.* – 2020. – Vol. 52. – № 5. – P. 856–871.e8.
43. Лабораторный мониторинг COVID-19 и значение определения маркеров коагулопатии / Д.Х. Хизроева, А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе, М.В. Третьякова, Е.В. Слуханчук, И. Элалами, Ж.К. Гри, Л.С. Радецкая, Н.А. Макацария, Я.Ю. Сулина, В.И. Цибизова, А.С. Шкода, Д.В. Блинов // *Акушерство, гинекология и репродукция.* – 2020. – Т. 14. – № 2. – С. 132–147.
44. Increased neutrophil extracellular traps promote metastasis potential of hepatocellular carcinoma via provoking tumorous inflammatory response / L.Y. Yang, Q. Luo, L. Lu [et al.] // *J Hematol Oncol.* – 2020. – Vol. 13. – № 1. – P. 3.
45. COVID-19, neutrophil extracellular traps and vascular complications in obstetric practice / A. Makatsariya, E. Slukhanchuk, V. Bitsadze, J. Khizroeva, M. Tretyakova, V. Tsibizova, A. Dobryakov, I. Elalamy, J.C. Gris // *J Perinat Med.* – 2020. – Vol. 48. – № 9. – P. 985–994.
46. Prevalence, symptom burden, and natural history of deep vein thrombosis in people with advanced cancer in specialist palliative care units (HIDDEN): a prospective longitudinal observational study / C. White, S.I Noble, M. Watson [et al.] // *Lancet Haematol.* – 2019. – Vol. 6. – № 2. – P. e79–e88.

47. Citrullinated histone H3, a biomarker for neutrophil extracellular trap formation, predicts the risk of mortality in patients with cancer / E. Grilz, L.M. Mauracher, F. Posch [et al.] // *Br J Haematol.* – 2019. – Vol. 186. – № 2. – P. 311–320.
48. Prophylactic P-selectin inhibition with PSI-421 promotes resolution of venous thrombosis without anticoagulation / T.R. Meier, D.D. Myers Jr, S.K. Wroblewski [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2008. – Vol. 99. – № 2. – P. 343–351.
49. High plasma levels of soluble P-selectin are predictive of venous thromboembolism in cancer patients: results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS) / C. Ay, R. Simanek, R. Vormittag [et al.] // *Blood.* – 2008. – Vol. 112. – № 7. – P. 2703–2708.
50. Podoplanin expression in cancer-associated fibroblasts enhances tumor progression of invasive ductal carcinoma of the pancreas / K. Shindo, S. Aishima, K. Ohuchida [et al.] // *Mol Cancer.* – 2013. – Vol. 12. – № 1. – P. 168.
51. Mice with a deficiency in CLEC-2 are protected against deep vein thrombosis / H. Payne, T. Ponomaryov, S.P. Watson, A. Brill // *Blood.* – 2017. – Vol. 129. – № 14. – P. 2013–2020.
52. Cancer-associated thrombosis: an overview of mechanisms, risk factors, and treatment / N.B. Abdol Razak, G. Jones, M. Bhandari [et al.] // *Cancers.* – 2018. – Vol. 10. – № 10. – P. 380.
53. Khorana, A.A. The NCCN Clinical Practice Guidelines on Venous Thromboembolic Disease: strategies for improving VTE prophylaxis in hospitalized cancer patients / A.A. Khorana // *Oncologist.* – 2007. – Vol. 12. – № 11. – P. 1361–1370.
54. Malignancies, prothrombotic mutations, and the risk of venous thrombosis / J.W. Blom, C.J. Doggen, S. Osanto, F.R. Rosendaal // *JAMA.* – 2005. – Vol. 293. – № 6. – P. 715–722.
55. White, R.H. Incidence of symptomatic venous thromboembolism after different elective or urgent surgical procedures / R.H. White, H. Zhou, P.S. Romano // *Thromb Haemost.* – 2003. – Vol. 90. – № 3. – P. 446–455.
56. Effect of Factor V Leiden and prothrombin G20210→A mutations on thromboembolic risk in the national surgical adjuvant breast and bowel project breast

cancer prevention trial / N. Abramson, J.P. Costantino, J.E. Garber [et al.] // *J Natl Cancer Inst.* – 2006. – Vol. 98. – № 13. – P. 904–910.

57. Jhingran, A. Perioperative and postoperative complications of intracavitary radiation for FIGO stage I–III carcinoma of the cervix / A. Jhingran, P.J. Eifel // *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* – 2000. – Vol. 46. – № 5. – P. 1177–1183.

58. Venous thromboembolism in malignant glioma patients treated by chemoradiotherapy / A. Silvani, A. Salmaggi, M. Eoli [et al.] // *Neurol Sci.* – 2003. – Vol. 24. – № 4. – P. 272.

59. Cool, R.M. Recurrent peripheral arterial thrombosis induced by cisplatin and etoposide / R.M. Cool, J.D. Herrington, L. Wong // *Pharmacotherapy.* – 2002. – Vol. 22. № 9. – P. 1200–1204.

60. The effects of standard anthracycline-based chemotherapy on soluble ICAM-1 and vascular endothelial growth factor levels in breast cancer / P.J. Mills, B. Parker, V. Jones [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2004. – Vol. 10. – № 15. – P. 4998–5003.

61. Increased incidence of thromboembolism in stage IV breast cancer patients treated with a five-drug chemotherapy regimen / L.T. Goodnough, H. Saito, A. Manni [et al.] // *Cancer.* – 1984. – Vol. 54. – № 7. – P. 1264–1268.

62. Saphner, T. Venous and arterial thrombosis in patients who received adjuvant therapy for breast cancer / T. Saphner, D.C. Tormey, R. Gray // *J Clin Oncol.* – 1991. – Vol. 9. – № 2. – P. 286–294.

63. Anastrozole is superior to tamoxifen as first-line therapy in hormone receptor positive advanced breast carcinoma / J. Bonnetterre, A. Buzdar, J.M. Nabholz [et al.] // *Cancer.* – 2001. – Vol. 92. – № 9. – P. 2247–2258.

64. Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination) trial after completion of 5 years' adjuvant treatment for breast cancer / A. Howell, J. Cuzick, M. Baum [et al.] // *Lancet.* – 2005. – Vol. 365. – № 9453. – P. 60–62.

65. Thromboembolic events during chemotherapy for germ cell cancer: a cohort study and review of the literature / N.I. Weijl, M.F. Rutten, A.H. Zwinderman [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2000. – Vol. 18. – № 10. – P. 2169–2178.

66. Thromboembolic events in patients treated with definitive chemotherapy and radiation therapy for invasive cervical cancer / G.M. Jacobson, R.S. Kamath, B.J. Smith, M.J. Goodheart // *Gynecol Oncol.* – 2005. – Vol. 96. – № 2. – P. 470–474.
67. Risk factors for venous thromboembolic events in cancer patients / K. Kröger, D. Weiland, C. Ose [et al.] // *Ann Oncol.* – 2006. – Vol. 17. – № 2. – P. 297–303.
68. Symptomatic venous thromboembolism in cancer patients treated with chemotherapy: an underestimated phenomenon / H.M. Otten, J. Mathijssen, H. ten Cate [et al.] // *Arch Intern Med.* – 2004. – Vol. 164. – № 2. – P. 190–194.
69. Thrombosis related to the use of L-asparaginase in adults with acute lymphoblastic leukemia: a need to consider coagulation monitoring and clotting factor replacement / S.R. Alberts, M. Bretscher, J.C. Wiltsie [et al.] // *Leuk Lymphoma.* – 1999. – Vol. 32. – № 5–6. – P. 489–496.
70. Effects of short-term glucocorticoids on hemostatic factors in healthy volunteers / D.J. Brotman, J.P. Girod, A. Posch [et al.] // *Thromb Res.* – 2006. – Vol. 118. – № 2. – P. 247–252.
71. Activated protein C resistance in the absence of factor V Leiden mutation is a common finding in multiple myeloma and is associated with an increased risk of thrombotic complications / M. Zangari, F. Saghafifar, E. Anaissie [et al.] // *Blood Coagul Fibrinolysis.* – 2002. – Vol. 13. – № 3. – P. 187–192.
72. Noncardiac vascular toxicities of vascular endothelial growth factor inhibitors in advanced cancer: a review / D. Keefe, J. Bowen, R. Gibson [et al.] // *Oncologist.* – 2011. – Vol. 16. – № 4. – P. 432–444.
73. Phase I trial of the oral antiangiogenesis agent AG-013736 in patients with advanced solid tumors: pharmacokinetic and clinical results / H.S. Rugo, R.S. Herbst, G. Liu [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2005. – Vol. 23. – № 24. – P. 5474–5483.
74. Risk of arterial thromboembolic events with sunitinib and sorafenib: a systematic review and meta-analysis of clinical trials / T.K. Choueiri, F.A. Schutz, Y. Je [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2010. – Vol. 28. – № 13. – P. 2280–2285.

75. Recombinant human erythropoietin and overall survival in cancer patients: results of a comprehensive meta-analysis / J. Bohlius, S. Langensiepen, G. Schwarzer [et al.] // *J Natl Cancer Inst.* – 2005. – Vol. 97. – № 7. – P. 489–498.
76. Thrombosis in cancer patients treated with hematopoietic growth factors--a meta-analysis. On behalf of the Subcommittee on Haemostasis and Malignancy of the Scientific and Standardization Committee of the ISTH / T. Barbul, G. Finazzi, A. Grassi, R. Marchioli // *Thromb Haemost.* – 1996. – Vol. 75. – № 2. – P. 368–371.
77. Risk factors for upper limb deep vein thrombosis associated with the use of central vein catheter in cancer patients / M. Verso, G. Agnelli, P.W. Kamphuisen [et al.] // *Intern Emerg Med.* – 2008. – Vol. 3. – № 2. – P. 117–122.
78. Shivakumar, S.P. Catheter-associated thrombosis in patients with malignancy / S.P. Shivakumar, D.R. Anderson, S. Couban // *J Clin Oncol.* – 2009. – Vol. 27. – № 29. – P. 4858–4864.
79. Incidence and predictors of venous thromboembolism (VTE) among ambulatory high-risk cancer patients undergoing chemotherapy in the United States / A.A. Khorana, M. Dalal, J. Lin, G.C. Connolly // *Cancer.* – 2013. – Vol. 119. – № 3. – P. 648–655.
80. Khorana, A.A. Cancer and coagulation / A.A. Khorana // *Am J Hematol.* – 2012. – Vol. 87. – Suppl. 1. – P. S82–87.
81. Prediction of venous thromboembolism in cancer patients / C. Ay, D. Dunkler, C. Marosi [et al.] // *Blood.* – 2010. – Vol. 116. – № 24. – P. 5377–5382.
82. A modified Khorana risk assessment score for venous thromboembolism in cancer patients receiving chemotherapy: the Protecht score / M. Verso, G. Agnelli, S. Barni [et al.] // *Intern Emerg Med.* – 2012. – Vol. 7. – № 3. – P. 291–292.
83. Accuracy of clinical decision rule, D-dimer and spiral computed tomography in patients with malignancy, previous venous thromboembolism, COPD or heart failure and in older patients with suspected pulmonary embolism / M. Sohne, M.J. Kruip, M. Nijkeuter [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2006. – Vol. 4. – № 5. – P. 1042–1046.
84. A critical appraisal of non-invasive diagnosis and exclusion of deep vein thrombosis and pulmonary embolism in outpatients with suspected deep vein thrombosis or

- pulmonary embolism: how many tests do we need? / J.J. Michiels, A. Gadisseur, M. Van Der Planken [et al.] // *Int Angiol.* – 2005. – Vol. 24. – № 1. – P. 27–39.
85. Saad, W.E. Computer tomography for venous thromboembolic disease / W.E. Saad, N. Saad // *Radiol Clin North Am.* – 2007. – Vol. 45. – № 3. – P. 423–445, vii.
86. Magnetic resonance direct thrombus imaging of the evolution of acute deep vein thrombosis of the leg / R.E. Westerbeek, C.J. Van Rooden, M. Tan [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2008. – Vol. 6. – № 7. – P. 1087–1092.
87. Clinical decision rules for excluding pulmonary embolism: a meta-analysis / W. Lucassen, G.J. Geersing, P.M. Erkens [et al.] // *Ann Intern Med.* – 2011. – Vol. 155. – № 7. – P. 448–460.
88. Computed tomographic pulmonary angiography vs ventilation-perfusion lung scanning in patients with suspected pulmonary embolism: a randomized controlled trial / D.R. Anderson, S.R. Kahn, M.A. Rodger [et al.] // *JAMA.* – 2007. – Vol. 298. – № 23. – P. 2743–2753.
89. Szala, S. Angiogenesis and immune suppression: yin and yang of tumor progression? / S. Szala // *Postepy Hig Med Dosw (Online).* – 2009. – Vol. 63. – P. 598–612.
90. Garley, M. NETs in cancer / M. Garley, E. Jabłońska, D. Dąbrowska // *Tumour Biol.* – 2016. – Vol. 37. – № 11. – P. 14355–14361.
91. Granot, Z. Distinct Functions of Neutrophil in Cancer and Its Regulation / Z. Granot, J. Jablonska // *Mediators Inflamm.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 701067.
92. Слуханчук, Е.В. NETs и онкологический процесс / Е.В. Слуханчук // *Акушерство, гинекология и репродукция.* – 2021. – Т. 15. – № 1. – С. 107–116.
93. Fridlender, Z.G. Tumor-associated neutrophils: friend or foe? / Z.G. Fridlender, S.M. Albelda // *Carcinogenesis.* – 2012. – Vol. 33. – № 5. – P. 949–955.
94. Li, L. Normal stem cells and cancer stem cells: the niche matters / L. Li, W.B. Neaves // *Cancer Res.* – 2006. – Vol. 66. – № 9. – P. 4553–4557.
95. Migratory neighbors and distant invaders: tumor-associated niche cells / J. Wels, R.N. Kaplan, S. Rafii, D. Lyden // *Genes Dev.* – 2008. – Vol. 22. – № 5. – P. 559–574.

96. Kim, J. Tumor-Associated Macrophages and Neutrophils in Tumor Microenvironment / J. Kim, J.S. Bae // *Mediators Inflammation*. – 2016. – Vol. 2016. – P. 6058147.
97. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF- β : “N1” versus “N2” TAN / Z.G. Fridlender, J. Sun, S. Kim [et al.] // *Cancer Cell*. – 2009. – Vol. 16. – № 3. – P. 183–194.
98. Breast cancer cell uptake of the inflammatory mediator neutrophil elastase triggers an anticancer adaptive immune response / E.A. Mittendorf, G. Alatrash, N. Qiao [et al.] // *Cancer Res*. – 2012. – Vol. 72. – № 13. – P. 3153–3162.
99. Papayannopoulos, V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease / V. Papayannopoulos // *Nat Rev Immunol*. – 2018. – Vol. 18. – № 2. – P. 134–147.
100. El-Shebini, E.M. Neutrophil extracellular traps in systemic lupus erythematosus / E.M. El-Shebini, S.A. Shoeib, A.H. Elghotmy // *Menoufia Medical Journal*. – 2020. – Vol. 33. – № 3. – P. 729.
101. Coagulation and fibrinolytic disturbances in women with polycystic ovary syndrome / L. Mannerås-Holm, F. Baghaei, G. Holm [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2011. – Vol. 96. – № 4. – P. 1068–1076.
102. Delayed neutrophil apoptosis enhances NET formation in cystic fibrosis / R.D. Gray, G. Hardisty, K.H. Regan [et al.] // *Thorax*. – 2018. – Vol. 73. – № 2. – P. 134–144.
103. Extracellular DNA traps promote thrombosis / T.A. Fuchs, A. Brill, D. Duerschmied [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2010. – Vol. 107. – № 36. – P. 15880–15885.
104. Hyperglycemia Induces Neutrophil Extracellular Traps Formation Through an NADPH Oxidase-Dependent Pathway in Diabetic Retinopathy / L. Wang, X. Zhou, Y. Yin [et al.] // *Front Immunol*. – 2019. – Vol. 9. – P. 3076.
105. Neutrophil extracellular traps license macrophages for cytokine production in atherosclerosis / A. Warnatsch, M. Ioannou, Q. Wang, V. Papayannopoulos // *Science*. – 2015. – Vol. 349. – № 6245. – P. 316–320.

106. Grayson, P.C. At the Bench: neutrophil extracellular traps (NETs) highlight novel aspects of innate immune system involvement in autoimmune diseases / P.C. Grayson, M.J. Kaplan // *J Leukoc Biol.* – 2016. – Vol. 99. – № 2. – P. 253–264.
107. Mast cells and neutrophils release IL-17 through extracellular trap formation in psoriasis / A.M. Lin, C.J. Rubin, R. Khandpur [et al.] // *J Immunol.* – 2011. – Vol. 187. – № 1. – P. 490–500.
108. Cancers predispose neutrophils to release extracellular DNA traps that contribute to cancer-associated thrombosis / M. Demers, D.S. Krause, D. Schatzberg [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2012. – Vol. 109. – № 32. – P. 13076–13081.
109. Activated endothelial cells induce neutrophil extracellular traps and are susceptible to NETosis-mediated cell death / A.K. Gupta, M.B. Joshi, M. Philippova [et al.] // *FEBS Lett.* – 2010. – Vol. 584. – № 14. – P. 3193–3197.
110. 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. Грим, Э. Грандоне // *Вестник Российской академии медицинских наук.* – 2021. – Т. 76. – № 1. – С. 75–85.
111. Neutrophil extracellular traps accumulate in peripheral blood vessels and compromise organ function in tumor-bearing animals / J. Cedervall, Y. Zhang, H. Huang [et al.] // *Cancer Res.* – 2015. – Vol. 75. – № 13. – P. 2653–2662.
112. Myeloperoxidase is required for neutrophil extracellular trap formation: implications for innate immunity / K.D. Metzler, T.A. Fuchs, W.M. Nauseef [et al.] // *Blood.* – 2011. – Vol. 117. – № 3. – P. 953–959.
113. Oncolytic activities of host defense peptides / S. Al-Benna, Y. Shai, F. Jacobsen, L. Steinstraesser // *Int J Mol Sci.* – 2011. – Vol. 12. – № 11. – P. 8027–8051.
114. Matrix metalloproteinase-9 from bone marrow-derived cells contributes to survival but not growth of tumor cells in the lung microenvironment / H.B. Acuff, K.J. Carter, B. Fingleton [et al.] // *Cancer Res.* – 2006. – Vol. 66. – № 1. – P. 259–266.

115. Contribution of host MMP-2 and MMP-9 to promote tumor vascularization and invasion of malignant keratinocytes / V. Masson, L.R. de la Ballina, C. Munaut [et al.] // *FASEB J.* – 2005. – Vol. 19. – № 2. – P. 234–236.
116. Plasticity in tumor-promoting inflammation: impairment of macrophage recruitment evokes a compensatory neutrophil response / J.C. Pahler, S. Tazzyman, N. Erez [et al.] // *Neoplasia.* – 2008. – Vol. 10. – № 4. – P. 329–340.
117. Neutrophil extracellular traps sequester circulating tumor cells and promote metastasis / J. Cools-Lartigue, J. Spicer, B. McDonald [et al.] // *J Clin Invest.* – 2013. – Vol. 123. – № 8. – P. 3446–3458.
118. Neutrophil extracellular traps sequester circulating tumor cells via β 1-integrin mediated interactions / S. Najmeh, J. Cools-Lartigue, R.F. Rayes [et al.] // *Int J Cancer.* – 2017. – Vol. 140. – № 10. – P. 2321–2330.
119. Neutrophil Extracellular Traps as an Adhesion Substrate for Different Tumor Cells Expressing RGD-Binding Integrins / M. Monti, V. De Rosa, F. Iommelli [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2018. – Vol. 19. – № 8. – P. 2350.
120. Neutrophil Extracellular Traps Drive Mitochondrial Homeostasis in Tumors to Augment Growth / H.O. Yazdani, E. Roy, A.J. Comerci [et al.] // *Cancer Res.* – 2019. – Vol. 79. – № 21. – P. 5626–5639.
121. Neutrophil extracellular traps produced during inflammation awaken dormant cancer cells in mice / J. Albregues, M.A. Shields, D. Ng [et al.] // *Science.* – 2018. – Vol. 361. – № 6409. – P. eaao4227.
122. Demers, M. Neutrophil extracellular traps: A new link to cancer-associated thrombosis and potential implications for tumor progression / M. Demers, D.D. Wagner // *Oncoimmunology.* – 2013. – Vol. 2. – № 2. – P. e22946.
123. Sequence and structure relationships within von Willebrand factor / Y.F. Zhou, E.T. Eng, J. Zhu [et al.] // *Blood.* – 2012. – Vol. 120. – № 2. – P. 449–458.
124. Springer, T.A. von Willebrand factor, Jedi knight of the bloodstream / T.A. Springer // *Blood.* – 2014. – Vol. 124. – № 9. – P. 1412–1425.
125. Furlan, M. Von Willebrand factor: molecular size and functional activity / M. Furlan // *Ann Hematol.* – 1996. – Vol. 72. – № 6. – P. 341–348.

126. Löf, A. A biophysical view on von Willebrand factor activation / A. Löf, J.P. Müller, M.A. Brehm // *J Cell Physiol.* – 2018. – Vol. 233. – № 2. – P. 799–810.
127. Active von Willebrand factor predicts 28-day mortality in patients with systemic inflammatory response syndrome / A. Hyseni, H. Kemperman, D.W. de Lange [et al.] // *Blood.* – 2014. – Vol. 123. – № 14. – P. 2153–2156.
128. The role of ADAMTS-13 and von Willebrand factor in cancer patients: Results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study / H.L. Obermeier, J. Riedl, C. Ay [et al.] // *Res Pract Thromb Haemost.* – 2019. – Vol. 3. – № 3. – P. 503–514.
129. Иммунотромбоз у онкологических больных: вклад внеклеточных ловушек нейтрофилов, ADAMTS13 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.
130. South, K. ADAMTS-13 and von Willebrand factor: a dynamic duo / K. South, D.A. Lane // *J Thromb Haemost.* – 2018. – Vol. 16. – № 1. – P. 6–18.
131. Caplacizumab treatment for acquired thrombotic thrombocytopenic purpura / M. Scully, S.R. Cataland, F. Peyvandi [et al.] // *N Engl J Med.* – 2019. – Vol. 380. – № 4. – P. 335–346.
132. A novel human metalloprotease synthesized in the liver and secreted into the blood: possibly, the von Willebrand factor-cleaving protease? / K. Soejima, N. Mimura, M. Hiroshima [et al.] // *J Biochem.* – 2001. – Vol. 130. – № 4. – P. 475–480.
133. Dong, J.F. Structural and functional correlation of ADAMTS13 / J.F. Dong // *Curr Opin Hematol.* – 2007. – Vol. 14. – № 3. – P. 270–276.
134. Cleavage of ultralarge multimers of von Willebrand factor by C-terminal-truncated mutants of ADAMTS13 under flow / Z. Tao, Y. Wang, H. Choi [et al.] // *Blood.* – 2005. – Vol. 106. – № 1. – P. 141–143.
135. Thrombotic microangiopathy, DIC-syndrome and COVID-19: link with pregnancy prothrombotic state / A.D. Makatsariya, E.V. Slukhanchuk, V.O. Bitsadze, J.K.H. Khizroeva, M.V. Tretyakova, V.I. Tsibizova, I. Elalamy, J.C. Gris, E. Grandone,

- N.A. Makatsarya, T. Mashkova // *J Maternal Fetal Neonatal Med.* – 2022. – Vol. 35. – № 13. – P. 2536–2544.
136. Pulmonary tumor thrombotic microangiopathy: the challenge of the antemortem diagnosis / A. Patrignani, A. Purcaro, F. Calcagnoli [et al.] // *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* – 2014. – Vol. 15. – № 11. – P. 828–833.
137. Protein A immunoabsorption therapy for refractory, mitomycin C-associated thrombotic microangiopathy / S. Kasper, M.F. Neurath, C. Huber [et al.] // *Transfusion.* – 2007. – Vol. 47. – № 7. – P. 1263–1267.
138. ADAMTS13 promotes angiogenesis and modulates VEGF-induced angiogenesis / M. Lee, E.S. Rodansky, J.K. Smith, G.M. Rodgers // *Microvasc Res.* – 2012. – Vol. 84. – № 2. – P. 109–115.
139. Platelets adhered to endothelial cell-bound ultra-large von Willebrand factor strings support leukocyte tethering and rolling under high shear stress / A. Bernardo, C. Ball, L. Nolasco [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2005. – Vol. 3. – № 3. – P. 562–570.
140. P-selectin glycoprotein ligand 1 and β 2-integrins cooperate in the adhesion of leukocytes to von Willebrand factor / R. Pendu, V. Terraube, O.D. Christophe [et al.] // *Blood.* – 2006. – Vol. 108. – № 12. – P. 3746–3752.
141. Lancellotti, S. Proteolytic processing of von Willebrand factor by adamts13 and leukocyte proteases / S. Lancellotti, M. Basso, R. De Cristofaro // *Mediterr J Hematol Infect Dis.* – 2013. – Vol. 5. – № 1. – P. e2013058.
142. Targeting of cell-free DNA by DNase I diminishes endothelial dysfunction and inflammation in a rat model of cardiopulmonary bypass / C. Weber, A. Jenke, V. Chobanova [et al.] // *Sci Rep.* – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 19249.
143. Price, L.C. Earlier diagnosis and international registries may improve outcomes in pulmonary tumour thrombotic microangiopathy / L.C. Price, S.J. Wort // *Eur Respir J.* – 2016. – Vol. 47. – № 2. – P. 690–691.
144. International clinical practice guidelines including guidance for direct oral anticoagulants in the treatment and prophylaxis of venous thromboembolism in patients with cancer / D. Farge, H. Bounameaux, B. Brenner [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2016. – Vol. 17. – № 10. – P. e452–e466.

145. Increased von Willebrand factor over decreased ADAMTS-13 activity is associated with poor prognosis in patients with advanced non-small-cell lung cancer / R. Guo, J. Yang, X. Liu [et al.] // *J Clin Lab Anal.* – 2018. – Vol. 32. – № 1. – P. e22219.
146. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura / G.G. Levy, W.C. Nichols, E.C. Lian [et al.] // *Nature.* – 2001. – Vol. 413. – № 6855. – P. 488–494.
147. Kwaan, H.C. Emerging Paradigms of Thrombosis and Cancer (part I): The yin yang Relationship between Thrombosis and Cancer / H.C. Kwaan, P.F. Lindholm // *Semin Thromb Hemost.* – Vol. 45 – № 4. – P. 319–320.
148. Platelets, Thrombo-Inflammation, and Cancer: Collaborating With the Enemy / A.L. Palacios-Acedo, D. Mège, L. Crescence [et al.] // *Front Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 1805.
149. Pulmonary tumor thrombotic microangiopathy: a new paraneoplastic syndrome / C.A. Carter, J.J. Scicinski, H.E. Lybeck, B.T. Oronsky // *Case Rep Oncol.* – 2016. – Vol. 9. – № 1. – P. 246–248.
150. Godbole, R.H. Pulmonary tumor thrombotic microangiopathy: a systematic review / R.H. Godbole, R. Saggar, N. Kamangar // *Pulm Circ.* – 2019. – Vol. 9. – № 2. – P. 2045894019851000.
151. Ratio of von Willebrand factor propeptide to ADAMTS13 is associated with severity of sepsis / H. Fukushima, K. Nishio, H. Asai [et al.] // *Shock.* – 2013. – Vol. 39. – № 5. – P. 409–414.
152. Информативность тестов определения опухолеассоциированных белков, показателей системы гемостаза и эндогенной интоксикации в оценке опухолевой прогрессии при раке тела матки / Т.Ю. Принькова, В.И. Прохорова, Т.П. Цырусъ [и др.] // *Лабораторная диагностика. Восточная Европа.* – 2013. – № 2. – С. 68–77.
153. Lechner, K. Cancer-related microangiopathic hemolytic anemia: clinical and laboratory features in 168 reported cases / K. Lechner, H.L. Obermeier // *Medicine (Baltimore).* – 2012. – Vol. 91. – № 4. – P. 195–205.
154. Thrombophilia / M. Zangari, F. Elice, G. Tricot, L. Fink // *Drug Target Insights.* – 2008. – Vol. 3. – № 1. – P. 87–97.

155. The 19-bp deletion of dihydrofolate reductase (DHFR), methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T, Factor V Leiden, prothrombin G20210A polymorphisms in cancer patients with and without thrombosis / A. Eroglu, Y. Egin, R. Çam, N. Akar // *Ann Hematol.* – 2009. – Vol. 88. – № 1. – P. 73–76.
156. Factor V Leiden, prothrombin 20210A and the risk of venous thrombosis among cancer patients / M. Kennedy, A.C. Andreescu, M.S. Greenblatt [et al.] // *Br J Haematol.* – 2005. – Vol. 128. – № 3. – P. 386–388.
157. Association of deep venous thrombosis with prothrombotic gene polymorphism identified in lung cancer cases / S. Arslan, S. Manduz, K. Epöztürk [et al.] // *Mol Biol Rep.* – 2011. – Vol. 38. – № 4. – P. 2395–2400.
158. Lim, M.Y. Thrombophilia / M.Y. Lim, S. Moll // *Vasc Med.* – 2015. – Vol. 20. – № 2. – P. 193–196.
159. Thrombophilia and risk of venous thrombosis in patients with cancer / H. Decousus, N. Moulin, S. Quenet [et al.] // *Thromb Res.* – 2007. – Vol. 120. – Suppl. 2. – P. S51–61.
160. Factor V Leiden and G20210A prothrombin mutation and the risk of subclavian vein thrombosis in patients with breast cancer and a central venous catheter / M. Mandalà, G. Curigliano, P. Bucciarelli [et al.] // *Ann Oncol.* – 2004. – Vol. 15. – № 4. – P. 590–593.
161. Do thrombophilic gene mutations have a role on thromboembolic events in cancer patients? / M. Ozkan, S. Sivgin, I. Kocyigit [et al.] // *Asia Pac J Clin Oncol.* – 2012. – Vol. 8. – № 3. – P. e34–41.
162. Risk of venous thromboembolism in association with factor V leiden in cancer patients – The EDITH case-control study / A. Heraudeau, A. Delluc, M. Le Henaff [et al.] // *PloS One.* – 2018. – Vol. 13. – № 5. – P. e0194973.
163. Prevalence of factor V Leiden, FII G20210A, FXIII Val34Leu and MTHFR C677T polymorphisms in cancer patients with and without venous thrombosis / E. Ramacciotti, N. Wolosker, P. Puech-Leao [et al.] // *Thromb Res.* – 2003. – Vol. 109. – № 4. – P. 171–174.
164. Genetic and plasma markers of venous thromboembolism in patients with high grade glioma / F.L. Sciacca, E. Ciusani, A. Silvani [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2004. – Vol. 10. – № 4. – P. 1312–1317.

165. PAI-1 haplogenotype confers genetic susceptibility for obesity and hypertriglyceridemia in Mexican children / U. de la Cruz-Mosso, L. Elena Ramos-Arellano, J. Francisco Muñoz-Valle [et al.] // *Invest Clin.* – 2016. – Vol. 57. – № 3. – P. 246–258.
166. PAI-1 polymorphisms have significant associations with cancer risk, especially feminine cancer / J. Wang, Y. Peng, H. Guo, C. Li // *Technol Cancer Res Treat.* – 2021. – Vol. 20. – P. 15330338211037813.
167. Impact of new mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase gene assessed on biochemical phenotypes: a familial study / C. Tonetti, J. Amiel, A. Munnich, J. Zittoun // *J Inherit Metab Dis.* – 2001. – Vol. 24. – № 8. – P. 833–842.
168. Characterization of six novel mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in patients with homocystinuria / S. Sibani, B. Christensen, E. O'Ferrall [et al.] // *Hum Mutat.* – 2000. – Vol. 15. – № 3. – P. 280–287.
169. Identification of four novel mutations in severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency / L.A. Kluijtmans, U. Wendel, E.M. Stevens [et al.] // *Eur J Hum Genet.* – 1998. – Vol. 6. – № 3. – P. 257–265.
170. Hyperhomocysteinemia and of methylenetetrahydrofolate reductase (C677T) genetic polymorphism in patients with deep vein thrombosis / J. Brezovska-Kavrakova, M. Krstevska, G. Bosilkova [et al.] // *Mater Sociomed.* – 2013. – Vol. 25. – № 3. – P. 170–174.
171. Mutated methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for spina bifida / N.M. van der Put, R.P. Steegers-Theunissen, P. Frosst [et al.] // *Lancet.* – 1995. – Vol. 346. – № 8982. – P. 1070–1071.
172. The risk of cervical cancer in relation to serum concentrations of folate, vitamin B12, and homocysteine / A.J. Alberg, J. Selhub, K.V. Shah [et al.] // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2000. – Vol. 9. – № 7. – P. 761–764.
173. Powers, H.J. Interaction among folate, riboflavin, genotype, and cancer, with reference to colorectal and cervical cancer / H.J. Powers // *J Nutr.* – 2005. – Vol. 135. – Suppl. 12. – P. 2960S–2966S.

174. Robien, K. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk: a HuGE minireview / K. Robien, C.M. Ulrich // *Am J Epidemiol.* – 2003. – Vol. 157. – № 7. – P. 571–582.
175. The 1298A→C polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): in vitro expression and association with homocysteine / I.S. Weisberg, P.F. Jacques, J. Selhub [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2001. – Vol. 156. – № 2. – P. 409–415.
176. 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. Самбурова, З.Д. Асланова, Д.В. Блинов, А.С. Шкода, А.Д. Макацария // *Акушерство, гинекология и репродукция.* – 2023. – Т. 17. – № 4. – С. 390–401.
177. Systematic review of observational studies reporting antiphospholipid antibodies in patients with solid tumors / N. Abdel-Wahab, J.H. Tayar, F. Fa'ak [et al.] // *Blood Adv.* – 2020. – Vol. 4. – № 8. – P. 1746–1755.
178. Antiphospholipid antibodies associated with malignancies: clinical and pathological characteristics of 120 patients / J.A. Gómez-Puerta, R. Cervera, G. Espinosa [et al.] // *Semin Arthritis Rheum.* – Vol. 35 – № 5. – P. 322–332.
179. Islam, M.A. Antiphospholipid antibodies and antiphospholipid syndrome in cancer: Uninvited guests in troubled times / M.A. Islam // *Semin Cancer Biol.* – 2020. – Vol. 64. – P. 108–113.
180. Lupus anticoagulant: a clinical and laboratory study of 100 cases / B. Jude, J. Goudemand, I. Dolle [et al.] // *Clin Lab Haematol.* – 1988. – Vol. 10. – № 1. – P. 41–51.
181. A prospective epidemiological study on the occurrence of antiphospholipid antibody: the Montpellier Antiphospholipid (MAP) Study / J.F. Schved, C. Dupuy-Fons, C. Biron [et al.] // *Haemostasis.* – 1994. – Vol. 24. – № 3. – P. 175–182.
182. Finazzi, G. The Italian registry of antiphospholipid antibodies / G. Finazzi // *Haematologica.* – 1997. – Vol. 82. – № 1. – P. 101–105.

183. Anti-cardiolipin antibodies and overall survival in a large cohort: preliminary report / G. Endler, C. Marsik, B. Jilma [et al.] // *Clin Chem.* – 2006. – Vol. 52. – № 6. – P. 1040–1044.
184. Morbidity and mortality in the antiphospholipid syndrome during a 10-year period: a multicentre prospective study of 1000 patients / R. Cervera, R. Serrano, G.J. Pons-Estel [et al.] // *Ann Rheum Dis.* – 2015. – Vol. 74. – № 6. – P. 1011–1018.
185. The catastrophic antiphospholipid (Asherson's) syndrome and malignancies / W. Miesbach, R.A. Asherson, R. Cervera [et al.] // *Autoimmun Rev.* – 2006. – Vol. 6. – № 2. – P. 94–97.
186. Тромботический шторм, нарушения гемостаза и тромбовоспаление в условиях COVID-19 / А.Д. Макацария, Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе, Д.Х. Хизроева, М.В. Третьякова, А.С. Шкода, С.В. Акиньшина, Н.А. Макацария, В.И. Цибизова, Ж.К. Гри, И. Элалами, Ц. Ай, Э. Грандоне // *Акушерство, гинекология и репродукция.* – 2021. – Т. 15. – № 5. – С. 499–514.
187. Hughes, G.R. Seronegative antiphospholipid syndrome / G.R. Hughes, M.A. Khamashta // *Ann Rheum Dis.* – 2003. – Vol. 62. – № 12. – P. 1127.
188. Asherson, R.A. Vascular occlusions in a patient with low positive antiphospholipid antibodies and subsequent development of breast carcinoma: a diagnostic dilemma / R.A. Asherson, D. D' Cruz // *Clin Rheumatol.* – 2007. – Vol. 26. – № 9. – P. 1531–1533.
189. Recurrent deep vein thrombosis, ovarian carcinoma and antibodies to mitochondria M5 in a patient with asymptomatic primary "plus" antiphospholipid syndrome: an unusual combination / R.A. Asherson, N. Schamroth-Rapaport, B. Skudowitz [et al.] // *Clin Exp Rheumatol.* – 2007. – Vol. 25. – № 6. – P. 890–895.
190. 14th international congress on antiphospholipid antibodies task force report on catastrophic antiphospholipid syndrome / R. Cervera, I. Rodríguez-Pintó, S. Colafrancesco [et al.] // *Autoimmun Rev.* – 2014. – Vol. 13. – № 7. – P. 699–707.
191. Tambralli, A. NETs in APS: current knowledge and future perspectives / A. Tambralli, K. Gockman, J.S. Knight // *Curr Rheumatol Rep.* – 2020. – Vol. 22. – № 10. – P. 67.

192. Thierry, A.R. Neutrophil extracellular traps and by-products play a key role in COVID-19: pathogenesis, risk factors, and therapy / A.R. Thierry, B. Roch // *J Clin Med.* – 2020. – Vol. 9. – № 9. – P. 2942.
193. Protein N-homocysteinylation: From cellular toxicity to neurodegeneration / G.S. Sharma, T. Kumar, T.A. Dar, L.R. Singh // *Biochim Biophys Acta.* – 2015. – Vol. 1850. – № 11. – P. 2239–2245.
194. Brustolin, S. Genetics of homocysteine metabolism and associated disorders / S. Brustolin, R. Giugliani, T.M. Félix // *Braz J Med Biol Res.* – 2010. – Vol. 43. – № 1. – P. 1–7.
195. Seshadri, S. Elevated plasma homocysteine levels: risk factor or risk marker for the development of dementia and Alzheimer's disease? / S. Seshadri // *J Alzheimer Dis.* – 2006. – Vol. 9. – № 4. – P. 393–398.
196. Disturbed homocysteine metabolism is associated with cancer / T. Hasan, R. Arora, A.K. Bansal [et al.] // *Exp Mol Med.* – 2019. – Vol. 51. – № 2. – P. 1–13.
197. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease / S. Seshadri, A. Beiser, J. Selhub [et al.] // *N Engl J Med.* – 2002. – Vol. 346. – № 7. – P. 476–483.
198. Selhub, J. Homocysteine metabolism / J. Selhub // *Annu Rev Nutr.* – 1999. – Vol. 19. – P. 217–246.
199. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations / P.F. Jacques, A.G. Bostom, R.R. Williams [et al.] // *Circulation.* – 1996. – Vol. 93. – № 1. – P. 7–9.
200. Williams, K.T. New insights into the regulation of methyl group and homocysteine metabolism / K.T. Williams, K.L. Schalinske // *J Nutr.* – 2007. – Vol. 137. – № 2. – P. 311–314.
201. Locasale, J.W. Serine, glycine and one-carbon units: cancer metabolism in full circle / J.W. Locasale // *Nat Rev Cancer.* – 2013. – Vol. 13. – № 8. – P. 572–583.
202. Physiological and pharmacological features of the novel gasotransmitter: hydrogen sulfide / D. Mancardi, C. Penna, A. Merlino [et al.] // *Biochim Biophys Acta.* – 2009. – Vol. 1787. – № 7. – P. 864–872.

203. Wu, L.L. Hyperhomocysteinemia is a risk factor for cancer and a new potential tumor marker / L.L. Wu, J.T. Wu // *Clin Chim Acta*. – 2002. – Vol. 322. – № 1–2. – P. 21–28.
204. Hyperhomocysteinemia in women with advanced breast cancer / A. Gatt, A. Makris, H. Cladd [et al.] // *Int J Lab Hematol*. – 2007. – Vol. 29. – № 6. – P. 421–425.
205. Relative impact of risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based study / J.A. Heit, W.M. O'Fallon, T.M. Petterson [et al.] // *Arch Intern Med*. – 2002. – Vol. 162. – № 11. – P. 1245–1248.
206. Welch, G.N. Homocysteine and atherothrombosis / G.N. Welch, J. Loscalzo // *N Engl J Med*. – 1998. – Vol. 338. – № 15. – P. 1042–1050.
207. Sharma, G.S. N-homocysteinylated proteins induce different structural and functional consequences on acidic and basic proteins / G.S. Sharma, T. Kumar, L.R. Singh // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9. – № 12. – P. e116386.
208. Kumar, T. Homocystinuria: therapeutic approach / T. Kumar, G.S. Sharma, L.R. Singh // *Clin Chim Acta*. – 2016. – Vol. 458. – P. 55–62.
209. Vascular dysfunction in monkeys with diet-induced hyperhomocyst(e)inemia / S.R. Lentz, C.G. Sobey, D.J. Piegors [et al.] // *J Clin Invest*. – 1996. – Vol. 98. – № 1. – P. 24–29.
210. FitzGerald, G.A. Parsing an enigma: the pharmacodynamics of aspirin resistance / G.A. FitzGerald // *Lancet*. – 2003. – Vol. 361. – № 9357. – P. 542–544.
211. Homocystamides promote free-radical and oxidative damage to proteins / M. Sibrian-Vazquez, J.O. Escobedo, S. Lim [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2010. – Vol. 107. – № 2. – P. 551–554.
212. The molecular and cellular effect of homocysteine metabolism imbalance on human health / H. Škovierová, E. Vidomanová, S. Mahmood [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2016. – Vol. 17. – № 10. – P. 1733.
213. Structure, multiple site binding, and segmental accommodation in thymidylate synthase on binding dUMP and an anti-folate / W.R. Montfort, K.M. Perry, E.B. Fauman [et al.] // *Biochemistry*. – 1990. – Vol. 29. – № 30. – P. 6964–6977.

214. Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage / B.C. Blount, M.M. Mack, C.M. Wehr [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 1997. – Vol. 94. – № 7. – P. 3290–3295.
215. Atlas of human tumor cell lines. / Hay R. K., Park J.-G., Gazdar A.: Academic Press, 2013.
216. Folate and DNA methylation: a review of molecular mechanisms and the evidence for folate's role / K.S. Crider, T.P. Yang, R.J. Berry, L.B. Bailey // *Adv Nutr*. – 2012. – Vol. 3. – № 1. – P. 21–38.
217. Hall, L.E. Pericentric and centromeric transcription: a perfect balance required / L.E. Hall, S.E. Mitchell, R.J. O'Neill // *Chromosome Res*. – 2012. – Vol. 20. – № 5. – P. 535–546.
218. Ehrlich, M. DNA hypomethylation, cancer, the immunodeficiency, centromeric region instability, facial anomalies syndrome and chromosomal rearrangements / M. Ehrlich // *J Nutr*. – 2002. – Vol. 132. – № 8. – P. 2424S–2429S.
219. Elevated homocysteine level and folate deficiency associated with increased overall risk of carcinogenesis: meta-analysis of 83 case-control studies involving 35,758 individuals / D. Zhang, X. Wen, W. Wu [et al.] // *PloS One*. – 2015. – Vol. 10. – № 5. – P. e0123423.
220. Molecular detection of cytokeratin-19–positive cells in the peripheral blood of patients with operable breast cancer: Evaluation of their prognostic significance / A. Stathopoulou, I. Vlachonikolis, D. Mavroudis [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2002. – Vol. 20. – № 16. – P. 3404–3412.
221. Elyamany, G. Cancer-associated thrombosis: an overview / G. Elyamany, A.M. Alzahrani, E. Bukhary // *Clin Med Insights Oncol*. – 2014. – Vol. 8. – P. 129–137.
222. Effects of cancer on platelets / N. van Es, A. Sturk, S. Middeldorp, R. Nieuwland // *Semin Oncol*. – 2014. – Vol. 41. – № 3. – P. 311–318.
223. Clinical evidence for a link between microparticle-associated tissue factor activity and overt disseminated intravascular coagulation in patients with acute myelocytic leukemia / J. Thaler, I. Pabinger, W.R. Sperr, C. Ay // *Thromb Res*. – 2014. – Vol. 133. – № 3. – P. 303–305.

224. Swystun, L.L. Breast cancer chemotherapy induces the release of cell-free DNA, a novel procoagulant stimulus / L.L. Swystun, S. Mukherjee, P.C. Liaw // *J Thromb Haemost.* – 2011. – Vol. 9. – № 11. – P. 2313–2321.
225. 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.
226. Investigation of proposed mechanisms of chemotherapy-induced venous thromboembolism: endothelial cell activation and procoagulant release due to apoptosis / C.C. Kirwan, C.N. Mccollum, G. McDowell, G.J. Byrne // *Clin Appl Thromb Hemost.* – 2015. – Vol. 21. – № 5. – P. 420–427.
227. 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. Якубова, Ж. 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.
228. Aggarwal, B.B. Nuclear factor- κ B: the enemy within / B.B. Aggarwal // *Cancer Cell.* – 2004. – Vol. 6. – № 3. – P. 203–208.
229. Weitz, I. Chemotherapy-induced hemostatic activation and thrombosis in cancer / I. Weitz, H.A. Liebman. In: *Cancer-Associated Thrombosis.* Edited by: A.A. Khorana, C.W. Francis. – CRC Press, 2007. – P. 81–92. – ISBN: 978-1420047998. – Текст: непосредственный.
230. Mo, J. Expression of P-selectin, VCAM-1, and PSGL-1 in traumatic deep venous thrombosis / J. Mo, D. Zhang, R. Yang // *Int J Clin Exp Pathol.* – 2016. – Vol. 9. – № 3. – P. 3403–3409.

231. ADAMTS13: more than a regulator of thrombosis / Y. Feng, X. Li, J. Xiao [et al.] // *Int J Hematol.* – 2016. – Vol. 104. – № 5. – P. 534–539.
232. Gemcitabine-induced thrombotic microangiopathy: a systematic review / H. Izzedine, C. Isnard-Bagnis, V. Launay-Vacher [et al.] // *Nephrol Dial Transplantat.* – 2006. – Vol. 21. – № 11. – P. 3038–3045.
233. Ohtsu, H. ADAMs as mediators of EGF receptor transactivation by G protein-coupled receptors / H. Ohtsu, P.J. Dempsey, S. Eguchi // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2006. – Vol. 291. – № 1. – P. C1–10.
234. TTP-HUS associated with sunitinib / M.K. Choi, J.Y. Hong, J.H. Jang, H.Y. Lim // *Cancer Res Treat.* – 2008. – Vol. 40. – № 4. – P. 211–213.
235. Secondary thrombotic microangiopathy in two patients with Philadelphia-positive hematological malignancies treated with imatinib mesylate / M. Ojeda-Uribe, S. Merieau, M. Guillon [et al.] // *J Oncol Pharm Pract.* – 2016. – Vol. 22. – № 2. – P. 361–370.
236. The VKORC1 and CYP2C9 genotypes are associated with over-anticoagulation during initiation of warfarin therapy in children / T.T. Biss, P.J. Avery, M.D. Williams [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2013. – Vol. 11. – № 2. – P. 373–375.
237. The incidence of thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: all patients, idiopathic patients, and patients with severe ADAMTS-13 deficiency / D.R. Terrell, L.A. Williams, S.K. Vesely [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2005. – Vol. 3. – № 7. – P. 1432–1436.
238. ADAMTS13 activity decreases after hepatectomy, reflecting a postoperative liver dysfunction / E. Okano, S. Ko, H. Kanehiro [et al.] // *Hepatogastroenterology.* – 2010. – Vol. 57. – № 98. – P. 316–320.
239. Platelet-derived VWF-cleaving metalloprotease ADAMTS13 / L. Liu, H. Choi, A. Bernardo [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2005. – Vol. 3. – № 11. – P. 2536–2544.
240. The pathological challenge of establishing a precise diagnosis for pulmonary tumour thrombotic microangiopathy: identification of new diagnostic criteria / N. Sato, T. Tasaki, H. Noguchi [et al.] // *Histopathology.* – 2019. – Vol. 74. – № 6. – P. 892–901.

241. Endothelial cell ADAMTS13 and VWF: production, release, and VWF string cleavage / N.A. Turner, L. Nolasco, Z.M. Ruggeri, J.L. Moake // *Blood*. – 2009. – Vol. 114. – № 24. – P. 5102–5111.
242. Screening for Occult Cancer in Unprovoked Venous Thromboembolism / M. Carrier, A. Lazo-Langner, S. Shivakumar [et al.] // *N Engl J Med*. – 2015. – Vol. 373. – № 8. – P. 697–704.
243. ADAMTS-13 plasma level determination uncovers antigen absence in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura and ethnic differences / H.B. Feys, F. Liu, N. Dong [et al.] // *J Thromb Haemost*. – 2006. – Vol. 4. – № 5. – P. 955–962.
244. Antithrombotic Therapy for VTE Disease: CHEST Guideline and Expert Panel Report / C. Kearon, E.A. Akl, J. Ornelas [et al.] // *Chest*. – 2016. – Vol. 149. – № 2. – P. 315–352.
245. Tumor microenvironment in chemoresistance, metastasis and immunotherapy of pancreatic cancer / S. Wang, Y. Li, C. Xing [et al.] // *Am J Cancer Res*. – 2020. – Vol. 10. – № 7. – P. 1937–1953.
246. Hedrick, C.C. Neutrophils in cancer: heterogeneous and multifaceted / C.C. Hedrick, I. Malanchi // *Nat Rev Immunol*. – 2022. – Vol. 22. – № 3. – P. 173–187.
247. Chemotherapy-induced neutropenia as a prognostic factor in patients with pancreatic cancer treated with gemcitabine plus nab-paclitaxel: a retrospective cohort study / M. Kan, H. Imaoka, K. Watanabe [et al.] // *Cancer Chemother Pharmacol*. – 2020. – Vol. 86. – № 2. – P. 203–210.
248. Kasi, P.M. Chemotherapy-Induced Neutropenia as a Prognostic and Predictive Marker of Outcomes in Solid-Tumor Patients / P.M. Kasi, A. Grothey // *Drugs*. – 2018. – Vol. 78. – № 7. – P. 737–745.
249. Targeting and exploitation of tumor-associated neutrophils to enhance immunotherapy and drug delivery for cancer treatment / Y. Zhang, L. Guoqiang, M. Sun, X. Lu // *Cancer Biol Med*. – 2020. – Vol. 17. – № 1. – P. 32–43.
250. Schwarzenbach, H. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients / H. Schwarzenbach, D.S. Hoon, K. Pantel // *Nat Rev Cancer*. – 2011. – Vol. 11. – № 6. – P. 426–437.

251. Circulating Cell-Free DNA in Plasma of Never Smokers with Advanced Lung Adenocarcinoma Receiving Gefitinib or Standard Chemotherapy as First-Line Therapy / Y.J. Lee, K.A. Yoon, J.Y. Han [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2011. – Vol. 17. – № 15. – P. 5179–5187.
252. Neutrophil extracellular traps in cancer progression / J. Cools-Lartigue, J. Spicer, S. Najmeh, L. Ferri // *Cell Mol Life Sci.* – 2014. – Vol. 71. – № 21. – P. 4179–4194.
253. Circulating nucleosomes predict the response to chemotherapy in patients with advanced non–small cell lung cancer / S. Holdenrieder, P. Stieber, J. von Pawel [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2004. – Vol. 10. – № 18, Pt. 1. – P. 5981–5987.
254. Circulating DNA and myeloperoxidase indicate disease activity in patients with thrombotic microangiopathies / T.A. Fuchs, J.A. Kremer Hovinga, D. Schatzberg [et al.] // *Blood.* – 2012. – Vol. 120. – № 6. – P. 1157–1164.
255. Антикоагулянтные, противовоспалительные, противовирусные и противоопухолевые свойства гепаринов / В.О. Бицадзе, Е.В. Слуханчук, Д.Х. Хизроева, М.В. Третьякова, Н.В. Пятигорская, С.В. Акинъшина, 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.
256. Heparin and heparan sulfate: analyzing structure and microheterogeneity / Z. Shriver, I. Capila, G. Venkataraman, R. Sasisekharan // *Handb Exp Pharmacol.* – 2012. – № 207. – P. 159–176.
257. Pharmacology of heparin and related drugs / B. Mulloy, J. Hogwood, E. Gray [et al.] // *Pharmacol Rev.* – 2016. – Vol. 68. – № 1. – P. 76–141.
258. Smith, S.A. Heparin is procoagulant in the absence of antithrombin / S.A. Smith, J.H. Morrissey // *Thromb Haemost.* – 2008. – Vol. 100. – № 1. – P. 160–162.
259. Oduah, E.I. Heparin: past, present, and future / E.I. Oduah, R.J. Linhardt, S.T. Sharfstein // *Pharmaceuticals.* – 2016. – Vol. 9. – № 3. – P. 38.
260. Characterization of PF4-heparin complexes by photon correlation spectroscopy and zeta potential / S. Bertini, J. Fareed, L. Madaschi [et al.] // *Clin Appl Thromb Hemost.* – 2017. – Vol. 23. – № 7. – P. 725–734.

261. Walenga, J.M. Evolution of heparin anticoagulants to ultra-low-molecular-weight heparins: a review of pharmacologic and clinical differences and applications in patients with cancer / J.M. Walenga, G.H. Lyman // *Crit Rev Oncol Hematol.* – 2013. – Vol. 88. – № 1. – P. 1–18.
262. Individual patient data meta-analysis of enoxaparin vs. unfractionated heparin for venous thromboembolism prevention in medical patients / S. Laporte, J. Liotier, L. Bertoletti [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2011. – Vol. 9. – № 3. – P. 464–472.
263. Heparin and low-molecular-weight heparin mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing, monitoring, efficacy, and safety / J. Hirsh, T.E. Warkentin, S.G. Shaughnessy [et al.] // *Chest.* – 2001. – Vol. 119. – 1 Suppl. – P. 64S–94S.
264. Fondaparinux versus Enoxaparin in non-ST-elevation acute coronary syndromes: Short-term cost and long-term cost-effectiveness using data from the Fifth Organization to Assess Strategies in Acute Ischemic Syndromes Investigators (OASIS-5) trial / M.J. Sculpher, G. Lozano-Ortega, J. Sambrook [et al.] // *Am Heart J.* – 2009. – Vol. 157. – № 5. – P. 845–852.
265. Cassinelli, G. Old and new applications of non-anticoagulant heparin / G. Cassinelli, A. Naggi // *Int J Cardiol.* – 2016. – Vol. 212. – Suppl. 1. – P. S14–21.
266. Molecular determinants of the mechanism underlying acceleration of the interaction between antithrombin and factor Xa by heparin pentasaccharide / N.S. Quinsey, J.C. Whisstock, B. Le Bonniec [et al.] // *J Biol Chem.* – 2002. – Vol. 277. – № 18. – P. 15971–15978.
267. Антикоагулянты: методы контроля дозы и ингибиторы / В.О. Бицадзе, Е.В. Слуханчук, Д.Х. Хизроева, М.В. Третьякова, В.И. Цибизова, Н.Р. Гаршимова, И.А. Никаидзе, И. Элалами, Ж.К. Гри, А.Д. Макацария // *Акушерство, гинекология и репродукция.* – 2022. – Т. 16. – № 2. – С. 158–175.
268. Cassinelli, G. Non-Anticoagulant Heparins as Heparanase Inhibitors / G. Cassinelli, G. Torri, A. Naggi // *Adv Exp Med Biol.* – 2020. – Vol. 1221. – P. 493–522.
269. Cole, G.J. Neuronal cell–cell adhesion depends on interactions of N-CAM with heparin-like molecules / G.J. Cole, A. Loewy, L. Glaser // *Nature.* – 1986. – Vol. 320. – № 6061. – P. 445–447.

270. Regulation of cell motility, morphology, and growth by sulfated glycosaminoglycans / R.J. Klebe, L.V. Escobedo, K.L. Bentley, L.K. Thompson // *Cell Motil Cytoskeleton*. – 1986. – Vol. 6. – № 3. – P. 273–281.
271. Sandset, P.M. Heparin induces release of extrinsic: Coagulation pathway inhibitor (EPI) / P.M. Sandset, U. Abildgaard, M.L. Larsen // *Thromb Res*. – 1988. – Vol. 50. – № 6. – P. 803–813.
272. Binding to heparan sulfate or heparin enhances neutrophil responses to interleukin 8 / L.M. Webb, M.U. Ehrenguber, I. Clark-Lewis [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 1993. – Vol. 90. – № 15. – P. 7158–7162.
273. Nonanticoagulant heparin prevents histone-mediated cytotoxicity in vitro and improves survival in sepsis / K.C. Wildhagen, P. García de Frutos, C.P. Reutelingsperger [et al.] // *Blood*. – 2014. – Vol. 123. – № 7. – P. 1098–1101.
274. Inhibition of plasmin generation in plasma by heparin, low molecular weight heparin, and a covalent antithrombin–heparin complex / G.M.T. Chang, H.M. Atkinson, L.R. Berry, A.K.C. Chan // *Blood Coagul Fibrinolysis*. – 2017. – Vol. 28. – № 6. – P. 431–437.
275. Lam, L.H. The separation of active and inactive forms of heparin / L.H. Lam, J.E. Silbert, R.D. Rosenberg // *Biochem Biophys Res Commun*. – 1976. – Vol. 69. – № 2. – P. 570–577.
276. Friedl, A. Tissue-specific binding by FGF and FGF receptors to endogenous heparan sulfates / A. Friedl, M. Filla, A.C. Rapraeger // *Methods Mol Biol*. – 2001. – Vol. 171. – P. 535–546.
277. Low molecular weight heparin (LMWH) improves peritoneal function and inhibits peritoneal fibrosis possibly through suppression of HIF-1 α , VEGF and TGF- β 1 / J. Li, Z.Y. Guo, X.H. Gao [et al.] // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10. – № 2. – P. e0118481.
278. Enhanced anti-tumor and anti-metastasis therapy for triple negative breast cancer by CD44 receptor-targeted hybrid self-delivery micelles / Y. Yang, Y. Long, Y. Wang [et al.] // *Int J Pharm*. – 2020. – Vol. 577. – P. 119085.
279. The effect of low molecular weight heparin on survival in cancer patients: an updated systematic review and meta-analysis of randomized trials / D. Sanford, A. Naidu,

- N. Alizadeh, A. Lazo-Langner // *J Thromb Haemost.* – 2014. – Vol. 12. – № 7. – P. 1076–1085.
280. Low molecular weight heparin downregulates tissue factor expression and activity by modulating growth factor receptor-mediated induction of nuclear factor- κ B / C. Ettelaie, D. Fountain, M.E. Collier [et al.] // *Biochim Biophys Acta.* – 2011. – Vol. 1812. – № 12. – P. 1591–1600.
281. Antimetastatic effects associated with anticoagulant properties of heparin and chemically modified heparin species in a mouse mammary tumor model / D. Alonso, G. Bertolesi, E. Farias [et al.] // *Oncol Rep.* – 1996. – Vol. 3. – № 1. – P. 219–222.
282. Differential interactions of heparin and heparan sulfate glycosaminoglycans with the selectins. Implications for the use of unfractionated and low molecular weight heparins as therapeutic agents / A. Koenig, K. Norgard-Sumnicht, R. Linhardt, A. Varki // *J Clin Invest.* – 1998. – Vol. 101. – № 4. – P. 877–889.
283. Modulating the interaction of CXCR4 and CXCL12 by low-molecular-weight heparin inhibits hepatic metastasis of colon cancer / L. Ma, H. Qiao, C. He [et al.] // *Invest New Drugs.* – 2012. – Vol. 30. – № 2. – P. 508–517.
284. The role of VLA-4 binding for experimental melanoma metastasis and its inhibition by heparin / M. Schlesinger, M. Roblek, K. Ortmann [et al.] // *Thromb Res.* – 2014. – Vol. 133. – № 5. – P. 855–862.
285. Joseph, P.R.B. Heparin-bound chemokine CXCL8 monomer and dimer are impaired for CXCR1 and CXCR2 activation: implications for gradients and neutrophil trafficking / P.R.B. Joseph, K.V. Sawant, K. Rajarathnam // *Open Biol.* – 2017. – Vol. 7. – № 11. – P. 170168.
286. Antitumor properties of a new non-anticoagulant heparin analog from the mollusk *Nodipecten nodosus*: Effect on P-selectin, heparanase, metastasis and cellular recruitment / A.M. Gomes, E.O. Kozłowski, L. Borsig [et al.] // *Glycobiology.* – 2015. – Vol. 25. – № 4. – P. 386–393.
287. Heparin antagonizes cisplatin resistance of A2780 ovarian cancer cells by affecting the Wnt signaling pathway / D.B. Pfankuchen, F. Baltes, T. Batool [et al.] // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8. – № 40. – P. 67553–67566.

288. Interaction with the heparin-derived binding inhibitors destabilizes galectin-3 protein structure / P. Sindrewicz, E.A. Yates, J.E. Turnbull [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2020. – Vol. 523. – № 2. – P. 336–341.
289. Heparin co-factor II enhances cell motility and promotes metastasis in non-small cell lung cancer / W.Y. Liao, C.C. Ho, H.H. Hou [et al.] // *J Pathol.* – 2015. – Vol. 235. – № 1. – P. 50–64.
290. Adjuvant therapy with heparin in patients with lung cancer without indication for anticoagulants: A systematic review of the literature with meta-analysis / Y. Yu, Q. Lv, B. Zhang [et al.] // *J Cancer Res Ther.* – 2016. – Vol. 12. – Supplement. – P. 37–42.
291. Randomised phase 3 study of adjuvant chemotherapy with or without nadroparin in patients with completely resected non-small-cell lung cancer: the NVALT-8 study / H.J.M. Groen, E.H.F.M. van der Heijden, T.J. Klinkenberg [et al.] // *Br J Cancer.* – 2019. – Vol. 121. – № 5. – P. 372–377.
292. Anti-tumour effect of low molecular weight heparin in localised lung cancer: a phase III clinical trial / G. Meyer, B. Besse, H. Doubre [et al.] // *Eur Respir J.* – 2018. – Vol. 52. – № 4. – P. 1801220.
293. The effect of low molecular weight heparin on survival in patients with advanced malignancy / C.P. Klerk, S.M. Smorenburg, H.M. Otten [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2005. – Vol. 23. – № 10. – P. 2130–2135.
294. Randomized comparison of low molecular weight heparin and coumarin derivatives on the survival of patients with cancer and venous thromboembolism / A.Y. Lee, F.R. Rickles, J.A. Julian [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2005. – Vol. 23. – № 10. – P. 2123–2129.
295. Low molecular weight heparin, therapy with dalteparin, and survival in advanced cancer: the fragmin advanced malignancy outcome study (FAMOUS) / A.K. Kakkar, M.N. Levine, Z. Kadziola [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2004. – Vol. 22. – № 10. – P. 1944–1948.
296. Anti-metastasis efficacy and safety of non-anticoagulant heparin derivative versus low molecular weight heparin in surgical pancreatic cancer models / R. Alyahya, T. Sudha, M. Racz [et al.] // *Int J Oncol.* – 2015. – Vol. 46. – № 3. – P. 1225–1231.

297. Heparin and modified heparin inhibit complement activation in vivo / J.M. Weiler, R.E. Edens, R.J. Linhardt, D.P. Kapelanski // *J Immunol.* – 1992. – Vol. 148. – № 10. – P. 3210–3215.
298. Homogeneous, structurally defined heparin-oligosaccharides with low anticoagulant activity inhibit the generation of the amplification pathway C3 convertase in vitro / R.J. Linhardt, K.G. Rice, Y.S. Kim [et al.] // *J Biol Chem.* – 1988. – Vol. 263. – № 26. – P. 13090–13096.
299. The BBXB motif of RANTES is the principal site for heparin binding and controls receptor selectivity / A.E. Proudfoot, S. Fritchley, F. Borlat [et al.] // *J Biol Chem.* – 2001. – Vol. 276. – № 14. – P. 10620–10626.
300. Induction of the acute-phase reaction increases heparin-binding proteins in plasma / E. Young, T.J. Podor, T. Venner, J. Hirsh // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 1997. – Vol. 17. – № 8. – P. 1568–1574.
301. Heparins attenuated histone-mediated cytotoxicity in vitro and improved the survival in a rat model of histone-induced organ dysfunction / T. Iba, N. Hashiguchi, I. Nagaoka [et al.] // *Intensive Care Med Exp.* – 2015. – Vol. 3. – № 1. – P. 36.
302. Inhibition of leucocyte elastase by heparin and its derivatives / F. Redini, J.M. Tixier, M. Petitou [et al.] // *Biochem J.* – 1988. – Vol. 252. – № 2. – P. 515–519.
303. Unfractionated Heparin Alleviates Human Lung Endothelial Barrier Dysfunction Induced by High Mobility Group Box 1 Through Regulation of P38–GSK3 β –Snail Signaling Pathway / Z. Luan, B. Hu, L. Wu [et al.] // *Cell Physiol Biochem.* – 2018. – Vol. 46. – № 5. – P. 1907–1918.
304. Morgan, M.J. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling / M.J. Morgan, Z.G. Liu // *Cell Res.* – 2011. – Vol. 21. – № 1. – P. 103–115.
305. Levi, M. Inflammation and coagulation / M. Levi, T. van der Poll // *Crit Care Med.* – 2010. – Vol. 38. – 2 Suppl. – P. S26–34.
306. Connor, W.E. Plasma Lipoprotein Lipase after Subcutaneous Heparin / W.E. Connor, M.L. Armstrong // *Circulation.* – 1961. – Vol. 24. – № 1. – P. 87–93.

307. Heparin treatment of vascular smooth muscle cells results in the synthesis of the dual-specificity phosphatase MKP-1 / C.I. Blaukovitch, R. Pugh, A.C. Gilotti [et al.] // *J Cell Biochem.* – 2010. – Vol. 110. – № 2. – P. 382–391.
308. Inhibition of smooth muscle cell adhesion and proliferation on heparin-doped polypyrrole / E.M. Stewart, X. Liu, G.M. Clark [et al.] // *Acta Biomater.* – 2012. – Vol. 8. – № 1. – P. 194–200.
309. Endothelial heparan sulfate deficiency impairs L-selectin- and chemokine-mediated neutrophil trafficking during inflammatory responses / L. Wang, M. Fuster, P. Sriramarao, J.D. Esko // *Nat Immunol.* – 2005. – Vol. 6. – № 9. – P. 902–910.
310. Heparin-like glycosaminoglycans inhibit leukocyte adhesion to endotoxin-activated human vascular endothelial cells under nonstatic conditions / N. Kitamura, M. Yamaguchi, K. Shimabukuro [et al.] // *Eur Surg Res.* – 1996. – Vol. 28. – № 6. – P. 428–435.
311. Miller, S.J. Heparin regulates ICAM-1 expression in human endothelial cells: an example of non-cytokine-mediated endothelial activation / S.J. Miller, A.M. Hoggatt, W.P. Faulk // *Thromb Haemost.* – 1998. – Vol. 80. – № 3. – P. 481–487.
312. Platelet endothelial cell adhesion molecule 1 (PECAM-1) and its interactions with glycosaminoglycans: 2. Biochemical analyses / D.R. Coombe, S.M. Stevenson, B.F. Kinnear [et al.] // *Biochemistry.* – 2008. – Vol. 47. – № 17. – P. 4863–4875.
313. The first immunoglobulin-like neural cell adhesion molecule (NCAM) domain is involved in double-reciprocal interaction with the second immunoglobulin-like NCAM domain and in heparin binding / V.V. Kiselyov, V. Berezin, T.E. Maar [et al.] // *J Biol Chem.* – 1997. – Vol. 272. – № 15. – P. 10125–10134.
314. Heparin is an adhesive ligand for the leukocyte integrin Mac-1 (CD11b/CD1) / M.S. Diamond, R. Alon, C.A. Parkos [et al.] // *J Cell Biol.* – 1995. – Vol. 130. – № 6. – P. 1473–1482.
315. Selective interaction of heparin with the variable region 3 within surface glycoprotein of laboratory-adapted feline immunodeficiency virus / Q.Y. Hu, E. Fink, C.K. Grant, J.H. Elder // *PloS One.* – 2014. – Vol. 9. – № 12. – P. e115252.

316. Dabigatran enhances platelet reactivity and platelet thrombin receptor expression in patients with atrial fibrillation: reply / A. Achilles, A. Mohring, T. Zeus [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2017. – Vol. 15. – № 7. – P. 1524–1525.
317. Lipowsky, H.H. Inhibition of inflammation induced shedding of the endothelial glycocalyx with low molecular weight heparin / H.H. Lipowsky, A. Lescanic // *Microvasc Res.* – 2017. – Vol. 112. – P. 72–78.
318. Enoxaparin improves the course of dextran sodium sulfate-induced colitis in syndecan-1-deficient mice / M. Floer, M. Götte, M.K. Wild [et al.] // *Am J Pathol.* – 2010. – Vol. 176. – № 1. – P. 146–157.
319. Pathogenesis and management of heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis / P. Zhou, J.X. Yin, H.L. Tao, H.W. Zhang // *Clin Chim Acta.* – 2020. – Vol. 504. – P. 73–80.
320. American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: heparin-induced thrombocytopenia / A. Cuker, G.M. Arepally, B.H. Chong [et al.] // *Blood Adv.* – 2018. – Vol. 2. – № 22. – P. 3360–3392.
321. Review: Low-molecular-weight heparin-induced osteoporosis and osteoporotic fractures: a myth or an existing entity? / E. Lefkou, M. Khamashta, G. Hampson, B.J. Hunt // *Lupus.* – 2010. – Vol. 19. – № 1. – P. 3–12.
322. Low incidence of heparin-induced skin lesions in orthopedic surgery patients with low-molecular-weight heparins / M. Schindewolf, M. Paulik, H. Kroll [et al.] // *Clin Exp Allergy.* – 2018. – Vol. 48. – № 8. – P. 1016–1024.
323. Долгушина, Н.В. Низкомолекулярные гепарины в лечении плацентарной недостаточности и других осложнений беременности у больных вирусными инфекциями / Н.В. Долгушина, А.Д. Макацария // *АГ-инфо.* – 2007. – № 3. – С. 3–10.
324. A post hoc analysis of dalteparin versus oral anticoagulant (VKA) therapy for the prevention of recurrent venous thromboembolism (rVTE) in patients with cancer and renal impairment / S. Woodruff, G. Feugère, P. Abreu [et al.] // *J Thromb Thrombolysis.* – 2016. – Vol. 42. – № 4. – P. 494–504.

325. Treatment of venous thromboembolism in patients with cancer: subgroup analysis of the Matisse clinical trials / F.F. van Doornaal, G.E. Raskob, B.L. Davidson [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2009. – Vol. 101. – № 4. – P. 762–769.
326. Anticoagulation for the long-term treatment of venous thromboembolism in patients with cancer / E.A. Akl, L. Kahale, M. Barba [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2014. – № 7. – CD006650.
327. Venous thromboembolism prophylaxis and treatment in patients with cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update / G.H. Lyman, A.A. Khorana, N.M. Kuderer [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2013. – Vol. 31. – № 17. – P. 2189–2204.
328. Management of venous thromboembolism (VTE) in cancer patients: ESMO Clinical Practice Guidelines / M. Mandalà, A. Falanga, F. Roila [et al.] // *Ann Oncol.* – 2011. – Vol. 22. – Suppl. 6. – P. vi85–92.
329. Cancer-Associated Venous Thromboembolic Disease, Version 1.2015 / M.B. Streiff, B. Holmstrom, A. Ashrani [et al.] // *J Natl Compr Canc Netw.* – 2015. – Vol. 13. – № 9. – P. 1079–1095.
330. Guidance for the use of thrombolytic therapy for the treatment of venous thromboembolism / S. Vedantham, G. Piazza, A.K. Sista, N.A. Goldenberg // *J Thromb Thrombolysis.* – 2016. – Vol. 41. – № 1. – P. 68–80.
331. Inferior vena cava filters in patients with cancer and venous thromboembolism (VTE): patterns of use and outcomes / A. Brunson, G. Ho, R. White, T. Wun // *Thromb Res.* – 2016. – Vol. 140. – Suppl. 1. – P. S132–141.
332. Treatment of acute venous thromboembolism with dabigatran or warfarin and pooled analysis / S. Schulman, A.K. Kakkar, S.Z. Goldhaber [et al.] // *Circulation.* – 2014. – Vol. 129. – № 7. – P. 764–772.
333. Oral rivaroxaban versus enoxaparin with vitamin K antagonist for the treatment of symptomatic venous thromboembolism in patients with cancer (EINSTEIN-DVT and EINSTEIN-PE): a pooled subgroup analysis of two randomised controlled trials / M.H. Prins, A.W. Lensing, T.A. Brighton [et al.] // *Lancet Haematol.* – 2014. – Vol. 1. – № 1. – P. e37–46.

334. Oral apixaban for the treatment of acute venous thromboembolism / G. Agnelli, H.R. Buller, A. Cohen [et al.] // *N Engl J Med.* – 2013. – Vol. 369. – № 9. – P. 799–808.
335. Edoxaban versus warfarin for the treatment of symptomatic venous thromboembolism / Hokusai-VTE Investigators, H.R. Büller, H. Décousus [et al.] // *N Engl J Med.* – 2013. – Vol. 369. – № 15. – P. 1406–1415.
336. Drew, D.A. Aspirin and colorectal cancer: the promise of precision chemoprevention / D.A. Drew, Y. Cao, A.T. Chan // *Nat Rev Cancer.* – 2016. – Vol. 16. – № 3. – P. 173–186.
337. Thun, M.J. The role of aspirin in cancer prevention / M.J. Thun, E.J. Jacobs, C. Patrono // *Nat Rev Clin Oncol.* – 2012. – Vol. 9. – № 5. – P. 259–267.
338. Short-term effects of daily aspirin on cancer incidence, mortality, and non-vascular death: analysis of the time course of risks and benefits in 51 randomised controlled trials / P.M. Rothwell, J.F. Price, F.G. Fowkes [et al.] // *Lancet.* – 2012. – Vol. 379. – № 9826. – P. 1602–1612.
339. Is aspirin use associated with a decreased risk of ovarian cancer? A systematic review and meta-analysis of observational studies with dose-response analysis / D. Zhang, B. Bai, Y. Xi [et al.] // *Gynecol Oncol.* – 2016. – Vol. 142. – № 2. – P. 368–377.
340. Aspirin/antiplatelet agent use improves disease-free survival and reduces the risk of distant metastases in Stage II and III triple-negative breast cancer patients / J. Shiao, K.M. Thomas, A.S. Rahimi [et al.] // *Breast Cancer Res Treat.* – 2017. – Vol. 161. – № 3. – P. 463–471.
341. Non-steroidal anti-inflammatory drug use and risk of endometrial cancer: A systematic review and meta-analysis of observational studies / F. Verdoodt, S. Friis, C. Dehlendorff [et al.] // *Gynecol Oncol.* – 2016. – Vol. 140. – № 2. – P. 352–358.
342. Todoric, J. Targeting inflammation in cancer prevention and therapy / J. Todoric, L. Antonucci, M. Karin // *Cancer Prev Res (Phila).* – 2016. – Vol. 9. – № 12. – P. 895–905.
343. Chan, A.T. Aspirin and the risk of colorectal cancer in relation to the expression of COX-2 / A.T. Chan, S. Ogino, C.S. Fuchs // *N Engl J Med.* – 2007. – Vol. 356. – № 21. – P. 2131–2142.

344. Effect of daily aspirin on risk of cancer metastasis: a study of incident cancers during randomised controlled trials / P.M. Rothwell, M. Wilson, J.F. Price [et al.] // *Lancet*. – 2012. – Vol. 379. – № 9826. – P. 1591–1601.
345. Sostres, C. Aspirin, cyclooxygenase inhibition and colorectal cancer / C. Sostres, C.J. Gargallo, A. Lanás // *World J Gastrointest Pharmacol Ther*. – 2014. – Vol. 5. – № 1. – P. 40–49.
346. Battinelli, E.M. Release of angiogenesis regulatory proteins from platelet alpha granules: modulation of physiologic and pathologic angiogenesis / E.M. Battinelli, B.A. Markens, J.E. Italiano Jr // *Blood*. – 2011. – Vol. 118. – № 5. – P. 1359–1369.
347. Chemopreventive effects of aspirin at a glance / M.W. Usman, F. Luo, H. Cheng [et al.] // *Biochim Biophys Acta*. – 2015. – Vol. 1855. – № 2. – P. 254–263.
348. Neutrophil extracellular traps: villains and targets in arterial, venous, and cancer-associated thrombosis / C. Thålin, Y. Hisada, S. Lundström [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2019. – Vol. 39. – № 9. – P. 1724–1738.
349. P-selectin promotes neutrophil extracellular trap formation in mice / J. Etulain, K. Martinod, S.L. Wong [et al.] // *Blood*. – 2015. – Vol. 126. – № 2. – P. 242–246.
350. Human thrombin-derived host defense peptides inhibit neutrophil recruitment and tissue injury in severe acute pancreatitis / M. Merza, M. Rahman, S. Zhang [et al.] // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. – 2014. – Vol. 307. – № 9. – P. G914–G921.
351. Offermanns, S. Activation of platelet function through G protein-coupled receptors / S. Offermanns // *Circ Research*. – 2006. – Vol. 99. – № 12. – P. 1293–1304.
352. Aspirin, but not tirofiban displays protective effects in endotoxin induced lung injury / J. Tilgner, K.T. von Trotha, A. Gombert [et al.] // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11. – № 9. – P. e0161218.
353. Regulation of neutrophil extracellular trap formation by anti-inflammatory drugs / M.J. Lapponi, A. Carestia, V.I. Landoni [et al.] // *J Pharmacol Exp Ther*. – 2013. – Vol. 345. – № 3. – P. 430–437.
354. 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.

355. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China / С. Huang, Y. Wang, X. Li [et al.] // *Lancet*. – 2020. – Vol. 395. – № 10223. – P. 497–506.

356. Abnormal Coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia / N. Tang, D. Li, X. Wang, Z. Sun // *J Thromb Haemost*. – 2020. – Vol. 18. – № 4. – P. 844–847.

357. COVID-19, нарушения гемостаза и риск тромботических осложнений / А.Д. Макацария, Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе, Д.Х. Хизроева, М.В. Третьякова, В.И. Цибизова, А.С. Шкода, Э. Грандоне, И. Элалами, Д. Риццо, Ж.Р. Грис, С. Шульман, Б. Бреннер // *Вестник Российской академии медицинских наук*. – 2020. – Т. 75. – № 4. – С. 306–317.

358. Immune mechanisms of pulmonary intravascular coagulopathy in COVID-19 pneumonia / D. McGonagle, J.S. O'Donnell, K. Sharif [et al.] // *Lancet Rheumatol*. – 2020. – Vol. 2. – № 7. – P. e437–e445.

359. COVID-19, септический шок и синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. Часть 2 / В.О. Бицадзе, Д.Х. Хизроева, А.Д. Макацария, Е.В. Слуханчук, М.В. Третьякова, Д. Риццо, Ж. Грис, И. Элалами, В.Н. Серов, А.С. Шкода, Н.В. Самбунова // *Вестник Российской академии медицинских наук*. – 2020. – Т. 75. – № 3. – С. 214–225.

360. Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: A report of five cases / С. Magro, J.J. Mulvey, D. Berlin [et al.] // *Transl Res*. – 2020. – Vol. 220. – P. 1–13.

361. Factor VIII accelerates proteolytic cleavage of von Willebrand factor by ADAMTS13 / W. Cao, S. Krishnaswamy, R.M. Camire [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2008. – Vol. 105. – № 21. – P. 7416–7421.

362. Correlation between plasma activity of ADAMTS13 and coagulopathy, and prognosis in disseminated intravascular coagulation / J. Hyun, H.K. Kim, J.E. Kim [et al.] // *Thromb Res*. – 2009. – Vol. 124. – № 1. – P. 75–79.

363. Papayannopoulos, V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease / V. Papayannopoulos // *Nat Rev Immunol.* – 2018. – Vol. 18. – № 2. – P. 134–147.
364. Russell, C.D. Clinical evidence does not support corticosteroid treatment for 2019-nCoV lung injury / C.D. Russell, J.E. Millar, J.K. Baillie // *Lancet.* – 2020. – Vol. 395. – № 10223. – P. 473–475.
365. Barnado, A. At the bedside: neutrophil extracellular traps (NETs) as targets for biomarkers and therapies in autoimmune diseases / A. Barnado, L.J. Crofford, J.C. Oates // *J Leukoc Biol.* – 2016. – Vol. 99. – № 2. – P. 265–278.
366. Kambas, K. The emerging role of neutrophils in thrombosis—the journey of TF through NETs / K. Kambas, I. Mitroulis, K. Ritis // *Front Immunol.* – 2012. – Vol. 3. – P. 385.
367. 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.
368. Venous thromboembolism prophylaxis and treatment in patients with cancer: ASCO clinical practice guideline update / N.S. Key, A.A. Khorana, N.M. Kuderer [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2020. – Vol. 38. – № 5. – P. 496–520.
369. Venous thromboembolism in cancer patients: ESMO Clinical Practice Guideline / A. Falanga, C. Ay, M. Di Nisio [et al.] // *Ann Oncol.* – 2023. – Vol. 34. – № 5. – P. 452–467.
370. Venous thromboembolism GWAS reported genetic makeup and the hallmarks of cancer: Linkage to ovarian tumour behaviour / V. Tavares, R. Pinto, J. Assis [et al.] // *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* – 2020. – Vol. 1873. – № 1. – P. 188331.
371. BCG Vaccination Induces Long-Term Functional Reprogramming of Human Neutrophils / S.J.C.F.M. Moorlag, Y.A. Rodriguez-Rosales, J. Gillard [et al.] // *Cell Rep.* – 2020. – Vol. 33. – № 7. – P. 108387.

372. 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, Ж.К. Гри, И. Элалами, А.Д. Макацария // *Акушерство, гинекология и репродукция*. – 2022. – Т. 16. – № 4. – С. 426–437.
373. 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.
374. 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. Акиньшина, 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.
375. 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.
376. Oncogenic KRAS-induced interleukin-8 overexpression promotes cell growth and migration and contributes to aggressive phenotypes of non-small cell lung cancer / N. Sunaga, H. Imai, K. Shimizu [et al.] // *Int J cancer*. – 2012. – Vol. 130. – № 8. – P. 1733–1744.
377. Tumor-Produced Interleukin-8 Attracts Human Myeloid-Derived Suppressor Cells and Elicits Extrusion of Neutrophil Extracellular Traps (NETs) Effects of IL8 on MDSC / C. Alfaro, A. Teijeira, C. Oñate [et al.] // *Clin Cancer Res*. – 2016. – Vol. 22. – № 15. – P. 3924–3936.

378. Magna, M. The Alarmin Properties of DNA and DNA-associated Nuclear Proteins / M. Magna, D.S. Pisetsky // *Clin Ther.* – 2016. – Vol. 38. – № 5. – P. 1029–1041.
379. Novel Role of IL (interleukin)-1 β in Neutrophil Extracellular Trap Formation and Abdominal Aortic Aneurysms / A.K. Meher, M. Spinosa, J.P. Davis [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biology.* – 2018. – Vol. 38. – № 4. – P. 843–853.
380. Hedges, J.C. Mitogen-activated protein kinases regulate cytokine gene expression in human airway myocytes / J.C. Hedges, C.A. Singer, W.T. Gerthoffer // *Am J Respir Cell Mol Biol.* – 2000. – Vol. 23. – № 1. – P. 86–94.
381. Interleukin-8 and interleukin-17 for cancer / P. Zarogoulidis, F. Katsikogianni, T. Tsiouda [et al.] // *Cancer Invest.* – 2014. – Vol. 32. – № 5. – P. 197–205.
382. Köhidai, L. Chemotaxis and chemotactic selection induced with cytokines (IL-8, Rantes and TNF- α) in the unicellular *Tetrahymena pyriformis* / L. Köhidai, G. Csaba // *Cytokine.* – 1998. – Vol. 10. – № 7. – P. 481–486.
383. IL-8 induces neutrophil chemotaxis predominantly via type I IL-8 receptors / M.E. Hammond, G.R. Lapointe, P.H. Feucht [et al.] // *J Immunol.* – 1995. – Vol. 155. – № 3. – P. 1428–1433.
384. Neutrophil Extracellular Traps Induced by IL8 Promote Diffuse Large B-cell Lymphoma Progression via the TLR9 / M. Nie, L. Yang, X. Bi [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2019. – Vol. 25. – № 6. – P. 1867–1879.
385. Baggiolini, M. Neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils / M. Baggiolini, A. Walz, S.L. Kunkel // *J Clin Invest.* – 1989. – Vol. 84. – № 4. – P. 1045–1049.
386. Serum interleukin-8 reflects tumor burden and treatment response across malignancies of multiple tissue origins / M.F. Sanmamed, O. Carranza-Rua, C. Alfaro [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2014. – Vol. 20. – № 22. – P. 5697–5707.
387. PRL-3 improves colorectal cancer cell proliferation and invasion through IL-8 mediated glycolysis metabolism / H. Xu, Y. Zeng, L. Liu [et al.] // *Int J Oncol.* – 2017. – Vol. 51. – № 4. – P. 1271–1279.
388. 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. 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.

389. Impaired DNase1-mediated degradation of neutrophil extracellular traps is associated with acute thrombotic microangiopathies / M. Jiménez-Alcázar, M. Napirei, R. Panda [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2015. – Vol. 13. – № 5. – P. 732–742.

390. Martinod, K. Thrombosis: tangled up in NETs / K. Martinod, D.D. Wagner // *Blood.* – 2014. – Vol. 123. – № 18. – P. 2768–2776.

391. Gould, T.J. Extracellular DNA and histones: double-edged swords in immunothrombosis / T.J. Gould, Z. Lysov, P.C. Liaw // *J Thromb Haemost.* – 2015. – Vol. 13. – Suppl. 1. – P. S82–91.

392. Factor XII contact activation / C. Naudin, E. Burillo, S. Blankenberg [et al.] // *Semin Thromb Hemost.* – 2017. – Vol. 43 – № 8. – P. 814–826.

393. Histidine-rich glycoprotein binds DNA and RNA and attenuates their capacity to activate the intrinsic coagulation pathway / T.T. Vu, B.A. Leslie, A.R. Stafford [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2016. – Vol. 115. – № 1. – P. 89–98.

394. In vitro activation of coagulation by human neutrophil DNA and histone proteins but not neutrophil extracellular traps / D.F. Noubouossie, M.F. Whelihan, Y.B. Yu [et al.] // *Blood.* – 2017. – Vol. 129. – № 8. – P. 1021–1029.

395. Neutrophil extracellular traps directly induce epithelial and endothelial cell death: a predominant role of histones / M. Saffarzadeh, C. Juenemann, M.A. Queisser [et al.] // *PloS One.* – 2012. – Vol. 7. – № 2. – P. e32366.

396. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps / T.A. Fuchs, U. Abed, C. Goosmann [et al.] // *J Cell Biology.* – 2007. – Vol. 176. – № 2. – P. 231–241.

397. Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: involvement of platelet TLR2 and TLR4 / F. Semeraro, C.T. Ammollo, J.H. Morrissey [et al.] // *Blood.* – 2011. – Vol. 118. – № 7. – P. 1952–1961.

398. Functional responses and molecular mechanisms involved in histone-mediated platelet activation / A. Carestia, L. Rivadeneyra, M.A. Romaniuk [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2013. – Vol. 110. – № 5. – P. 1035–1045.
399. Histone H4 promotes prothrombin autoactivation / S. Barranco-Medina, N. Pozzi, A.D. Vogt, E. Di Cera // *J Biol Chem.* – 2013. – Vol. 288. – № 50. – P. 35749–35757.
400. DNA, histones and neutrophil extracellular traps exert anti-fibrinolytic effects in a plasma environment / I. Varjú, C. Longstaff, L. Szabó [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2015. – Vol. 113. – № 6. – P. 1289–1298.
401. Extracellular histones increase plasma thrombin generation by impairing thrombomodulin-dependent protein C activation / C.T. Ammollo, F. Semeraro, J. Xu [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2011. – Vol. 9. – № 9. – P. 1795–1803.
402. Activated protein C inhibits neutrophil extracellular trap in vitro and activation in vivo / L.D. Healy, C. Puy, J.A. Fernández [et al.] // *J Biol Chem.* – 2017. – Vol. 292. – № 21. – P. 8616–8629.
403. Komissarov, A.A. Effects of extracellular DNA on plasminogen activation and fibrinolysis / A.A. Komissarov, G. Florova, S. Idell // *J Biol Chem.* – 2011. – Vol. 286. – № 49. – P. 41949–41962.
404. Mechanical stability and fibrinolytic resistance of clots containing fibrin, DNA, and histones / C. Longstaff, I. Varjú, P. Sótonyi [et al.] // *J Biol Chem.* – 2013. – Vol. 288. – № 10. – P. 6946–6956.
405. Hanahan, D. Hallmarks of cancer: the next generation / D. Hanahan, R.A. Weinberg // *Cell.* – 2011. – Vol. 144. – № 5. – P. 646–674.
406. Greten, F.R. Inflammation and cancer: triggers, mechanisms, and consequences / F.R. Greten, S.I. Grivennikov // *Immunity.* – 2019. – Vol. 51. – № 1. – P. 27–41.
407. Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-to-Lymphocyte Ratios can Predict Treatment Response to Neoadjuvant Therapy in Esophageal Cancer / P.J. McLaren, N.W. Bronson, K.D. Hart [et al.] // *J Gastrointest Surg.* – 2017. – Vol. 21. – № 4. – P. 607–613.

408. Elevated preoperative neutrophil-to-lymphocytes ratio predicts poor prognosis after esophagectomy in T1 esophageal cancer / K. Nakamura, N. Yoshida, Y. Baba [et al.] // *Int J Clin Oncol.* – 2017. – Vol. 22. – № 3. – P. 469–475.
409. Analysis of Systemic Inflammatory Factors and Survival Outcomes in Endometrial Cancer Patients Staged I-III FIGO and Treated with Postoperative External Radiotherapy / K. Holub, F. Busato, S. Gouy [et al.] // *J Clin Med.* – 2020. – Vol. 9. – № 5. – P. 1441.
410. The significance of preoperative leukocytosis in endometrial carcinoma / M.J. Worley Jr, C.C. Nitschmann, M. Shoni [et al.] // *Gynecol Oncol.* – 2012. – Vol. 125. – № 3. – P. 561–565.
411. The values of applying classification and counts of white blood cells to the prognostic evaluation of resectable gastric cancers / Y.L. Wang, X.X. Ge, Y. Wang [et al.] // *BMC Gastroenterol.* – 2018. – Vol. 18. – № 1. – P. 99.
412. Baseline Peripheral Blood Leukocytosis Is Negatively Correlated With T-Cell Infiltration Predicting Worse Outcome in Colorectal Cancers / X. Hu, Y.Q. Li, Q.G. Li [et al.] // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 2354.
413. Erpenbeck, L. Neutrophil extracellular traps: protagonists of cancer progression? / L. Erpenbeck, M.P. Schön // *Oncogene.* – 2017. – Vol. 36. – № 18. – P. 2483–2490.
414. Release of neutrophil extracellular traps by neutrophils stimulated with antiphospholipid antibodies: a newly identified mechanism of thrombosis in the antiphospholipid syndrome / S. Yalavarthi, T.J. Gould, A.N. Rao [et al.] // *Arthritis Rheumatol.* – 2015. – Vol. 67. – № 11. – P. 2990–3003.
415. 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.
416. Endothelial progenitor cells and circulating endothelial cells in early prostate cancer: a comparison with plasma vascular markers / A.D. Blann, B. Balakrishnan, E. Shantsila [et al.] // *Prostate.* – 2011. – Vol. 71. – № 10. – P. 1047–1053.

417. Increased ADAMTS13 activity in patients with venous thromboembolism / B.M. Mazetto, F.L. Orsi, A. Barnabé [et al.] // *Thromb Res.* – 2012. – Vol. 130. – № 6. – P. 889–893.
418. Polymorphisms and mutations in vWF and ADAMTS13 genes and their correlation with plasma levels of FVIII and vWF in patients with deep venous thrombosis / L.F. Bittar, E.V. de Paula, T.B. Mello [et al.] // *Clin Appl Thromb Hemost.* – 2011. – Vol. 17. – № 5. – P. 514–518.
419. Correlation of angiogenic biomarker signatures with clinical outcomes in metastatic colorectal cancer patients receiving capecitabine, oxaliplatin, and bevacizumab / Y. Liu, M.D. Starr, A. Bulusu [et al.] // *Cancer Med.* – 2013. – Vol. 2. – № 2. – P. 234–242.
420. von Willebrand factor in head and neck cancer / J.D. Sweeney, K.M. Killion, C.F. Pruet, M.B. Spaulding // *Cancer.* – 1990. – Vol. 66. – № 11. – P. 2387–2389.
421. Clinical and prognostic implications of low or high level of von Willebrand factor in patients with Waldenström macroglobulinemia / B. Hivert, C. Caron, S. Petit [et al.] // *Blood.* – 2012. – Vol. 120. – № 16. – P. 3214–3221.
422. von Willebrand factor and cancer: a renewed interest / M. Franchini, F. Frattini, S. Crestani [et al.] // *Thromb Res.* – 2013. – Vol. 131. – № 4. – P. 290–292.
423. von Willebrand factor fibers promote cancer-associated platelet aggregation in malignant melanoma of mice and humans / A.T. Bauer, J. Suckau, K. Frank [et al.] // *Blood.* – 2015. – Vol. 125. – № 20. – P. 3153–3163.
424. Bergmeier, W. Glycoprotein Iba α and von Willebrand factor in primary platelet adhesion and thrombus formation: lessons from mutant mice / W. Bergmeier, A.K. Chauhan, D.D. Wagner // *Thromb Haemost.* – 2008. – Vol. 99. – № 2. – P. 264–270.
425. Masias, C. Novel therapies in thrombotic thrombocytopenic purpura / C. Masias, S.R. Cataland // *Res Pract Thromb Haemost.* – 2018. – Vol. 2. – № 1. – P. 19–26.
426. Heparins that block VEGF-A-mediated von Willebrand factor fiber generation are potent inhibitors of hematogenous but not lymphatic metastasis / L. Goertz, S.W. Schneider, A. Desch [et al.] // *Oncotarget.* – 2016. – Vol. 7. – № 42. – P. 68527–68545.

427. A modified Khorana risk assessment score for venous thromboembolism in cancer patients receiving chemotherapy: the Protecht score / M. Verso, G. Agnelli, S. Barni [et al.] // *Intern Emerg Med.* – 2012. – Vol. 7. – № 3. – P. 291–292.
428. The prognostic value of ADAMTS13 (a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type 1 repeats, member 13) deficiency in septic shock patients involves interleukin-6 and is not dependent on disseminated intravascular coagulation / V. Peigne, E. Azoulay, I. Coquet [et al.] // *Crit Care.* – 2013. – Vol. 17. – № 6. – P. R273.
429. A structural explanation for the antithrombotic activity of ARC1172, a DNA aptamer that binds von Willebrand factor domain A1 / R.H. Huang, D.H. Fremont, J.L. Diener [et al.] // *Structure.* – 2009. – Vol. 17. – № 11. – P. 1476–1484.
430. von Willebrand factor directly interacts with DNA from neutrophil extracellular traps / S. Grässle, V. Huck, K.I. Pappelbaum [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2014. – Vol. 34. – № 7. – P. 1382–1389.
431. Edwards, J.V. Human neutrophil elastase and collagenase sequestration with phosphorylated cotton wound dressings / J.V. Edwards, P.S. Howley // *J Biomed Mater Res A.* – 2007. – Vol. 83. – № 2. – P. 446–454.
432. Von Willebrand Factor Aggravates Hepatic Ischemia–Reperfusion Injury by Promoting Neutrophil Recruitment in Mice / Y. Urisono, A. Sakata, H. Matsui [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2018. – Vol. 118. – № 4. – P. 700–708.
433. Mediators and molecular pathways involved in the regulation of neutrophil extracellular trap formation mediated by activated platelets / A. Carestia, T. Kaufman, L. Rivadeneyra [et al.] // *J Leukoc Biol.* – 2016. – Vol. 99. – № 1. – P. 153–162.
434. The Role of von Willebrand Factor in Vascular Inflammation: from Pathogenesis to Targeted Therapy / F. Gragnano, S. Sperlongano, E. Golia [et al.] // *Mediators Inflamm.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 5620314.
435. Honda, M. Neutrophils and neutrophil extracellular traps in the liver and gastrointestinal system / M. Honda, P. Kubes // *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* – 2018. – Vol. 15. – № 4. – P. 206–221.

436. Complement activation, inflammation and relative ADAMTS13 deficiency in secondary thrombotic microangiopathies / P. Farkas, D. Csuka, B. Mikes [et al.] // *Immunobiology*. – 2017. – Vol. 222. – № 2. – P. 119–127.
437. Phase II Trial of Single Agent Bortezomib (VELCADE®) in Patients with Previously Untreated Multiple Myeloma (MM) / P.G. Richardson, A.A. Chanan-Khan, R.L. Schlossman [et al.] // *Blood*. – 2004. – Vol. 104. – P. 336–336.
438. Severe secondary deficiency of von Willebrand factor–cleaving protease (ADAMTS13) in patients with sepsis-induced disseminated intravascular coagulation: its correlation with development of renal failure / T. Ono, J. Mimuro, S. Madoiwa [et al.] // *Blood*. – 2006. – Vol. 107. – № 2. – P. 528–534.
439. Proteolytic inactivation of ADAMTS13 by thrombin and plasmin / J.T. Crawley, J.K. Lam, J.B. Rance [et al.] // *Blood*. – 2005. – Vol. 105. – № 3. – P. 1085–1093.
440. Klebanoff, S.J. Myeloperoxidase: friend and foe / S.J. Klebanoff // *J Leukoc Biol*. – 2005. – Vol. 77. – № 5. – P. 598–625.
441. Oxidative modification of von Willebrand factor by neutrophil oxidants inhibits its cleavage by ADAMTS13 / J. Chen, X. Fu, Y. Wang [et al.] // *Blood*. – 2010. – Vol. 115. – № 3. – P. 706–712.
442. Development of defective and persistent Sendai virus vector: a unique gene delivery/expression system ideal for cell reprogramming / K. Nishimura, M. Sano, M. Ohtaka [et al.] // *J Biol Chem*. – 2011. – Vol. 286. – № 6. – P. 4760–4771.
443. Human neutrophil peptides inhibit cleavage of von Willebrand factor by ADAMTS13: a potential link of inflammation to TTP / V.G. Pillai, J. Bao, C.B. Zander [et al.] // *Blood*. – 2016. – Vol. 128. – № 1. – P. 110–119.
444. Human neutrophil peptides: a novel potential mediator of inflammatory cardiovascular diseases / K. Quinn, M. Henriques, T. Parker [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. – 2008. – Vol. 295. – № 5. – P. H1817–1824.
445. Defensin modulates tissue-type plasminogen activator and plasminogen binding to fibrin and endothelial cells / A.A. Higazi, T. Ganz, K. Kariko, D.B. Cines // *J Biol Chem*. – 1996. – Vol. 271. – № 30. – P. 17650–17655.

446. Wong, S.L. Peptidylarginine deiminase 4: a nuclear button triggering neutrophil extracellular traps in inflammatory diseases and aging / S.L. Wong, D.D. Wagner // *FASEB J.* – 2018. – Vol. 32. – № 12. – P. fj201800691R.
447. Plasma Peptidylarginine Deiminase IV Promotes VWF-Platelet String Formation and Accelerates Thrombosis After Vessel Injury / N. Sorvillo, D.M. Mizurini, C. Coxon [et al.] // *Circ Res.* – 2019. – Vol. 125. – № 5. – P. 507–519.
448. Histone-induced thrombotic thrombocytopenic purpura in *adamts13*^{-/-} zebrafish depends on von Willebrand factor / L. Zheng, M.S. Abdelgawwad, D. Zhang [et al.] // *Haematologica.* – 2020. – Vol. 105. – № 4. – P. 1107–1119.
449. PAD, a growing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease / E.R. Vossenaar, A.J. Zendman, W.J. van Venrooij, G.J. Pruijn // *Bioessays.* – 2003. – Vol. 25. – № 11. – P. 1106–1118.
450. Hensen, S.M. Methods for the detection of peptidylarginine deiminase (PAD) activity and protein citrullination / S.M. Hensen, G.J. Pruijn // *Mol Cell Proteomics.* – 2014. – Vol. 13. – № 2. – P. 388–396.
451. Peptidylarginine deiminase expression and activity in PAD2 knock-out and PAD4-low mice / J.J. van Beers, A.J. Zendman, R. Raijmakers [et al.] // *Biochimie.* – 2013. – Vol. 95. – № 2. – P. 299–308.
452. Inhibition of PAD4 activity is sufficient to disrupt mouse and human NET formation / H.D. Lewis, J. Liddle, J.E. Coote [et al.] // *Nat Chem Biol.* – 2015. – Vol. 11. – № 3. – P. 189–191.
453. Neutrophil histone modification by peptidylarginine deiminase 4 is critical for deep vein thrombosis in mice / K. Martinod, M. Demers, T.A. Fuchs [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2013. – Vol. 110. – № 21. – P. 8674–8679.
454. Procoagulant effects of lung cancer chemotherapy: impact on microparticles and cell-free DNA / Z. Lysov, D.J. Dwivedi, T.J. Gould, P.C. Liaw // *Blood Coagul Fibrinolysis.* – 2017. – Vol. 28. – № 1. – P. 72–82.
455. Lung cancer chemotherapy agents increase procoagulant activity via protein disulfide isomerase-dependent tissue factor decryption / Z. Lysov, L.L. Swystun, S. Kuruvilla [et al.] // *Blood Coagul Fibrinolysis.* – 2015. – Vol. 26. – № 1. – P. 36–45.

456. Farrera, C. Macrophage clearance of neutrophil extracellular traps is a silent process / C. Farrera, B. Fadeel // *J Immunol.* – 2013. – Vol. 191. – № 5. – P. 2647–2656.
457. Prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients by circulating apoptotic biomarkers nucleosomes, DNase, cytokeratin-18 fragments and survivin / O.J. Stoetzer, D.M. Fersching, C. Salat [et al.] // *Cancer Lett.* – 2013. – Vol. 336. – № 1. – P. 140–148.
458. DNA, histones and neutrophil extracellular traps exert anti-fibrinolytic effects in a plasma environment / I. Varjú, C. Longstaff, L. Szabó [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2015. – Vol. 113. – № 6. – P. 1289–1298.
459. Schiff, P.B. Promotion of microtubule assembly in vitro by taxol / P.B. Schiff, J. Fant, S.B. Horwitz // *Nature.* – 1979. – Vol. 277. – № 5698. – P. 665–667.
460. Structure of tubulin at 6.5 Å and location of the taxol-binding site / E. Nogales, S.G. Wolf, I.A. Khan [et al.] // *Nature.* – 1995. – Vol. 375. – № 6530. – P. 424–427.
461. Nogales, E. Structural insights into microtubule function / E. Nogales // *Ann Rev Biochem.* – 2000. – Vol. 69. – P. 277–302.
462. Schiff, P.B. Taxol stabilizes microtubules in mouse fibroblast cells / P.B. Schiff, S.B. Horwitz // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1980. – Vol. 77. – № 3. – P. 1561–1565.
463. Paclitaxel: a review of adverse toxicities and novel delivery strategies / N.I. Marupudi, J.E. Han, K.W. Li [et al.] // *Expert Opin Drug Saf.* – 2007. – Vol. 6. – № 5. – P. 609–621.
464. Mechanism of cytotoxicity of anticancer platinum drugs: evidence that cis-diamminedichloroplatinum (II) and cis-diammine-(1, 1-cyclobutanedicarboxylato) platinum (II) differ only in the kinetics of their interaction with DNA / R.J. Knox, F. Friedlos, D.A. Lydall, J.J. Roberts // *Cancer Res.* – 1986. – Vol. 46. – № 4, Pt. 2. – P. 1972–1979.
465. Interleukin-17–induced neutrophil extracellular traps mediate resistance to checkpoint blockade in pancreatic cancer / Y. Zhang, V. Chandra, E. Riquelme Sanchez [et al.] // *J Exp Med.* – 2020. – Vol. 217. – № 12. – P. e20190354.

466. Neutrophil extracellular traps promote gastric cancer metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition / T. Zhu, X. Zou, C. Yang [et al.] // *Int J Mol Med.* – 2021. – Vol. 48. – № 1. – P. 127.
467. Ribatti, D. Epithelial-Mesenchymal Transition in Cancer: A Historical Overview / D. Ribatti, R. Tamma, T. Annese // *Transl Oncol.* – 2020. – Vol. 13. – № 6. – P. 100773.
468. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases / G.A. Cabral-Pacheco, I. Garza-Veloz, C. Castruita-De la Rosa [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21. – № 24. – P. 9739.
469. Relationships of MMP-9, E-cadherin, and VEGF expression with clinicopathological features and response to chemosensitivity in gastric cancer / H. Gao, X. Lan, S. Li, Y. Xue // *Tumour Biol.* – 2017. – Vol. 39. – № 5. – P. 1010428317698368.
470. Viallard, C. Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets / C. Viallard, B. Larrivé // *Angiogenesis.* – 2017. – Vol. 20. – № 4. – P. 409–426.
471. Neutrophil Extracellular Trap–Associated Ceacam1 as a Putative Therapeutic Target to Prevent Metastatic Progression of Colon Carcinoma / R.F. Rayes, P. Vourtzoumis, M. Bou Rjeily [et al.] // *J Immunol.* – 2020. – Vol. 204. – № 8. – P. 2285–2294.
472. Wherry, E.J. T cell exhaustion / E.J. Wherry // *Nat Immunol.* – 2011. – Vol. 12. – № 6. – P. 492–499.
473. Exhausted CD8⁺ T cells in the tumor immune microenvironment: new pathways to therapy / W. Jiang, Y. He, W. He [et al.] // *Front Immunol.* – 2021. – Vol. 11. – P. 622509.
Jiang W., He Y., He W., Wu G., Zhou X., Sheng Q., Zhong W., Lu Y., Ding Y., Lu Q.
474. Neutrophil extracellular traps promote T cell exhaustion in the tumor microenvironment / C. Kaltenmeier, H.O. Yazdani, K. Morder [et al.] // *Front Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 785222.
475. Morange, P.E. Lessons from genome-wide association studies in venous thrombosis / P.E. Morange, D.A. Tregouët // *J Thromb Haemost.* – 2011. – Vol. 9. – Suppl. 1. – P. 258–264.
476. Common susceptibility alleles are unlikely to contribute as strongly as the FV and ABO loci to VTE risk: results from a GWAS approach / D.A. Trégouët, S. Heath, N. Saut [et al.] // *Blood.* – 2009. – Vol. 113. – № 21. – P. 5298–5303.

477. Impact of thrombophilic gene mutations on thrombosis risk in patients with gastrointestinal carcinoma / R. Pihusch, G. Danzl, M. Scholz [et al.] // *Cancer*. – 2002. – Vol. 94. – № 12. – P. 3120–3126.
478. Integrin beta-3 genetic variants and risk of venous thromboembolism in colorectal cancer patients / D. Bianconi, A. Schuler, C. Pausz [et al.] // *Thromb Research*. – 2015. – Vol. 136. – № 5. – P. 865–869.
479. The GeneCards Suite: From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analyses / G. Stelzer, N. Rosen, I. Plaschkes [et al.] // *Curr Protoc Bioinformatics*. – 2016. – Vol. 54. – P. 1.30.1–1.30.33.
480. Eroglu, A. Vascular endothelial growth factor C936T polymorphism in cancer patients with thrombosis / A. Eroglu, S. Gulec, N. Akar // *Am J Hematol*. – 2007. – Vol. 82. – № 2. – P. 174.
481. IL-6-174 G> C and MMP-9-1562 C> T polymorphisms are associated with increased risk of deep vein thrombosis in cancer patients / G. Malaponte, J. Polesel, S. Candido [et al.] // *Cytokine*. – 2013. – Vol. 62. – № 1. – P. 64–69.
482. Association study of selected genetic polymorphisms and occurrence of venous thromboembolism in patients with multiple myeloma who were treated with thalidomide / M. Almasi, S. Sevcikova, O. Slaby [et al.] // *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. – 2011. – Vol. 11. – № 5. – P. 414–420.
483. TNF- α gene promoter polymorphisms and risk of venous thromboembolism in gastrointestinal cancer patients undergoing chemotherapy / M. Roselli, P. Ferroni, C. Rolfo [et al.] // *Ann Oncol*. – 2013. – Vol. 24. – № 10. – P. 2571–2575.
484. Estrogen receptor genotype is associated with risk of venous thromboembolism during tamoxifen therapy / A.A. Onitilo, C.A. McCarty, R.A. Wilke [et al.] // *Breast Cancer Res Treatment*. – 2009. – Vol. 115. – № 3. – P. 643–650.
485. Genetic associations with thalidomide mediated venous thrombotic events in myeloma identified using targeted genotyping / D.C. Johnson, S. Corthals, C. Ramos [et al.] // *Blood*. – 2008. – Vol. 112. – № 13. – P. 4924–4934.
486. Screening for Occult Cancer in Patients with Unprovoked Venous Thromboembolism: A Systematic Review and Meta-analysis of Individual Patient Data /

- N. van Es, G. Le Gal, H.M. Otten [et al.] // *Ann Intern Med.* – 2017. – Vol. 167. – № 6. – P. 410–417.
487. Increased coagulation activity and genetic polymorphisms in the F5, F10 and EPCR genes are associated with breast cancer: a case-control study / M. Tinholt, M.K. Viken, A.E. Dahm [et al.] // *BMC Cancer.* – 2014. – Vol. 14. – P. 845.
488. Dataset of GWAS-identified variants underlying venous thromboembolism susceptibility and linkage to cancer aggressiveness / V. Tavares, R. Pinto, J. Assis [et al.] // *Data Brief.* – 2020. – Vol. 30. – P. 105399.
489. Clotting factor gene polymorphisms and colorectal cancer risk / C.Y. Vossen, M. Hoffmeister, J.C. Chang-Claude [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2011. – Vol. 29. – № 13. – P. 1722–1727.
490. Association of PAI-1 gene polymorphism with survival and chemotherapy-related vascular toxicity in testicular cancer / E.C. de Haas, N. Zwart, C. Meijer [et al.] // *Cancer.* – 2010. – Vol. 116. – № 24. – P. 5628–5636.
491. uPA and PAI-1 as biomarkers in breast cancer: validated for clinical use in level-of-evidence-1 studies / M.J. Duffy, P.M. McGowan, N. Harbeck [et al.] // *Breast Cancer Res.* – 2014. – Vol. 16. – № 4. – P. 428.
492. Tumor expression, plasma levels and genetic polymorphisms of the coagulation inhibitor TFPI are associated with clinicopathological parameters and survival in breast cancer, in contrast to the coagulation initiator TF / M. Tinholt, H.K.M. Vollan, K.K. Sahlberg [et al.] // *Breast Cancer Res.* – 2015. – Vol. 17. – № 1. – P. 44.
493. Genetic variability in the MTHFR gene and colorectal cancer risk using the colorectal cancer family registry / A.J. Levine, J.C. Figueiredo, W. Lee [et al.] // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2010. – Vol. 19. – № 1. – P. 89–100.
494. Hyperhomocysteinemia, methylenetetrahydrofolate reductase c. 677C>T polymorphism and risk of cancer: Cross-sectional and prospective studies and meta-analyses of 75,000 cases and 93,000 controls / J. Zacho, S. Yazdanyar, S.E. Bojesen [et al.] // *Int J Cancer.* – 2011. – Vol. 128. – № 3. – P. 644–652.

495. MTHFR C677T polymorphism contributes to prostate cancer risk among Caucasians: A meta-analysis of 3511 cases and 2762 controls / J.L. Bai, M.H. Zheng, X. Xia [et al.] // *Eur J Cancer*. – 2009. – Vol. 45. – № 8. – P. 1443–1449.
496. Modulation of tumor necrosis factor- α -mediated cytotoxicity by changes of the cellular methylation state: mechanism and in vivo relevance / F. Ratter, C. Gassner, V. Shatrov, V. Lehmann // *Int Immunol*. – 1999. – Vol. 11. – № 4. – P. 519–527.
497. Zhu, B.T. Medical hypothesis: hyperhomocysteinemia is a risk factor for estrogen-induced hormonal cancer / B.T. Zhu // *Int J Oncol*. – 2003. – Vol. 22. – № 3. – P. 499–508.
498. A comparison of folic acid deficiency-induced genomic instability in lymphocytes of breast cancer patients and normal non-cancer controls from a Chinese population in Yunnan / X. Wang, X. Wu, Z. Liang [et al.] // *Mutagenesis*. – 2006. – Vol. 21. – № 1. – P. 41–47.
499. Dietary folate intake, alcohol, and risk of breast cancer in a prospective study of postmenopausal women / T.A. Sellers, L.H. Kushi, J.R. Cerhan [et al.] // *Epidemiology*. – 2001. – Vol. 12. – № 4. – P. 420–428.
500. Saturation diving alters folate status and biomarkers of DNA damage and repair / S.R. Zwart, J.M. Jessup, J. Ji, S.M. Smith // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7. – № 2. – P. e31058.
501. Oxidative DNA damage and global DNA hypomethylation are related to folate deficiency in chromate manufacturing workers / T.C. Wang, Y.S. Song, H. Wang [et al.] // *J Hazard Mater*. – 2012. – Vol. 213–214. – P. 440–446.
502. Pufulete, M. Folate, DNA methylation and colo-rectal cancer / M. Pufulete, P.W. Emery, T.A. Sanders // *Proc Nutr Soc*. – 2003. – Vol. 62. – № 2. – P. 437–445.
503. Radivoyevitch, T. Folate system correlations in DNA microarray data / T. Radivoyevitch // *BMC Cancer*. – 2005. – Vol. 5. – P. 95.
504. Prevalence, follow-up and clinical significance of the anticardiolipin antibodies in normal subjects / P. Vila, M. Hernández, M.F. López-Fernández, J. Batlle // *Thromb Haemost*. – 1994. – Vol. 72. – № 2. – P. 209–213.

505. Antiphospholipid antibodies in critically ill patients with cancer: a prospective cohort study / J. Vassalo, N. Spector, E. de Meis [et al.] // *J Crit care.* – 2014. – Vol. 29. – № 4. – P. 533–538.
506. Solid cancer, antiphospholipid antibodies, and venous thromboembolism / C. Font, L. Vidal, G. Espinosa [et al.] // *Autoimmun Rev.* – 2011. – Vol. 10. – № 4. – P. 222–227.
507. High prevalence of antiphospholipid antibodies in Asian cancer patients with thrombosis / K.H. Yoon, A. Wong, T. Shakespeare, P. Sivalingam // *Lupus.* – 2003. – Vol. 12. – № 2. – P. 112–116.
508. Martini, A. The clinical significance of antiphospholipid antibodies / A. Martini, A. Ravelli // *Ann Med.* – 1997. – Vol. 29. – № 2. – P. 159–163.
509. Blann, A.D. Venous thromboembolism / A.D. Blann, G.Y. Lip // *BMJ.* – 2006. – Vol. 332. – № 7535. – P. 215–219.
510. Tumor oncogene (KRAS) status and risk of venous thrombosis in patients with metastatic colorectal cancer / S. Ades, S. Kumar, M. Alam [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2015. – Vol. 13. – № 6. – P. 998–1003.
511. Mutations in NSCLC and their link with lung cancer-associated thrombosis: a case-control study / L. Corrales-Rodriguez, D. Soulières, X. Weng [et al.] // *Thromb Res.* – 2014. – Vol. 133. – № 1. – P. 48–51.
512. The JAK2 V617F somatic mutation, mortality and cancer risk in the general population / C. Nielsen, H.S. Birgens, B.G. Nordestgaard [et al.] // *Haematologica.* – 2011. – Vol. 96. – № 3. – P. 450–453.
513. JAK2 mutations across a spectrum of venous thrombosis cases / S. Shetty, B. Kulkarni, N. Pai [et al.] // *Am J Clin Pathol.* – 2010. – Vol. 134. – № 1. – P. 82–85.
514. Systemic Inflammation and Activation of Haemostasis Predict Poor Prognosis and Response to Chemotherapy in Patients with Advanced Lung Cancer / F. Moik, S. Zöchbauer-Müller, F. Posch [et al.] // *Cancers (Basel).* – 2020. – Vol. 12. – № 6. – P. 1619.
515. Marchetti, M. Hemostatic biomarkers in occult cancer and cancer risk prediction / M. Marchetti, A. Falanga // *Thromb Res.* – 2020. – Vol. 191. – Suppl. 1. – P. S37–S42.

516. Olson, J.D. D-dimer: an overview of hemostasis and fibrinolysis, assays, and clinical applications / J.D. Olson // *Adv Clin Chem.* – 2015. – Vol. 69. – P. 1–46.
517. High D-dimer levels are associated with poor prognosis in cancer patients / C. Ay, D. Dunkler, R. Pirker [et al.] // *Haematologica.* – 2012. – Vol. 97. – № 8. – P. 1158–1164.
518. Prognostic Role of Pretreatment Plasma D-Dimer in Patients with Solid Tumors: a Systematic Review and Meta-Analysis / W. Li, Y. Tang, Y. Song [et al.] // *Cell Physiol Biochem.* – 2018. – Vol. 45. – № 4. – P. 1663–1676.
519. Clinical significance of plasma D-dimer in ovarian cancer: A meta-analysis / J. Wu, Z. Fu, G. Liu [et al.] // *Medicine (Baltimore).* – 2017. – Vol. 96. – № 25. – P. e7062.
520. Coagulation markers predict survival in cancer patients / J.H. Beer, A. Haeberli, A. Vogt [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2002. – Vol. 88. – № 5. – P. 745–749.
521. Hemostatic Biomarkers and Venous Thromboembolism Are Associated With Mortality and Response to Chemotherapy in Patients With Pancreatic Cancer / F. Moik, G. Prager, J. Thaler [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2021. – Vol. 41. – № 11. – P. 2837–2847.
522. Haemostatic biomarkers for prognosis and prediction of therapy response in patients with metastatic colorectal cancer / F. Moik, F. Posch, E. Grilz [et al.] // *Thromb Res.* – 2020. – Vol. 187. – P. 9–17.
523. Thrombotic biomarkers for risk prediction of malignant disease recurrence in patients with early stage breast cancer / C. Giaccherini, M. Marchetti, G. Masci [et al.] // *Haematologica.* – 2020. – Vol. 105. – № 6. – P. 1704–1711.
524. Clinical significance of plasma D-dimer and fibrinogen in digestive cancer: a systematic review and meta-analysis / Y. Lin, Z. Liu, Y. Qiu [et al.] // *Eur J Surg Oncol.* – 2018. – Vol. 44. – № 10. – P. 1494–1503.
525. Prognostic role of pretreatment plasma fibrinogen in patients with solid tumors: a systematic review and meta-analysis / C. Perisanidis, A. Psyrris, E.E. Cohen [et al.] // *Cancer Treat Rev.* – 2015. – Vol. 41. – № 10. – P. 960–970.
526. Prognostic significance of urokinase (uPA) and its inhibitor PAI-1 for survival in advanced ovarian carcinoma stage FIGO IIIc / W. Kuhn, B. Schmalfeldt, U. Reuning [et al.] // *Br J Cancer.* – 1999. – Vol. 79. – № 11–12. – P. 1746–1751.

527. Primary tumor and metastasis in ovarian cancer differ in their content of urokinase-type plasminogen activator, its receptor, and inhibitors types 1 and 2 / B. Schmalfeldt, W. Kuhn, U. Reuning [et al.] // *Cancer Res.* – 1995. – Vol. 55. – № 18. – P. 3958–3963.
528. Clinical impact of the plasminogen activation system in tumor invasion and metastasis: prognostic relevance and target for therapy / M. Schmitt, N. Harbeck, C. Thomssen [et al.] // *Thromb Haemost.* – 1997. – Vol. 78. – № 1. – P. 285–296.
529. Duffy, M.J. Urokinase-type plasminogen activator: a potent marker of metastatic potential in human cancers / M.J. Duffy // *Biochem Soc Trans.* – 2002. – Vol. 30. – № 2. – P. 207–210.
530. Enhanced benefit from adjuvant chemotherapy in breast cancer patients classified high-risk according to urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor type 1 (n= 3424) / N. Harbeck, R.E. Kates, M.P. Look [et al.] // *Cancer Res.* – 2002. – Vol. 62. – № 16. – P. 4617–4622.
531. Levi, M. New treatment strategies for disseminated intravascular coagulation based on current understanding of the pathophysiology / M. Levi, E. de Jonge, T. van der Poll // *Ann Med.* – 2004. – Vol. 36. – № 1. – P. 41–49.
532. Griffin, J.H. Activated protein C: potential therapy for severe sepsis, thrombosis, and stroke / J.H. Griffin, B. Zlokovic, J.A. Fernández // *Semin Hematol.* – 2002. – Vol. 39. – № 3. – P. 197–205.
533. Castoldi, E. APC resistance: biological basis and acquired influences / E. Castoldi, J. Rosing // *J Thromb Haemost.* – 2010. – Vol. 8. – № 3. – P. 445–453.
534. Mechanisms for acquired activated protein C resistance in cancer patients / G. Sarig, Y. Michaeli, N. Lanir [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2005. – Vol. 3. – № 3. – P. 589–590.
535. Association between protein C levels and mortality in patients with advanced prostate, lung and pancreatic cancer / I. Wilts, B. Hutten, J.C.M. Meijers [et al.] // *Thromb Res.* – 2017. – Vol. 154. – P. 1–6.
536. Prognostic value of soluble P-selectin levels in colorectal cancer / P. Ferroni, M. Roselli, F. Martini [et al.] // *Int J Cancer.* – 2004. – Vol. 111. – № 3. – P. 404–408.

537. Thrombosis risk and survival in cancer patients with elevated C-reactive protein / R. Kanz, T. Vukovich, R. Vormittag [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2011. – Vol. 9. – № 1. – P. 57–63.
538. Longitudinal analysis of hemostasis biomarkers in cancer patients during antitumor treatment / E.M. Reitter, A. Kaider, C. Ay [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2016. – Vol. 14. – № 2. – P. 294–305.
539. ADAMTS-13 and von Willebrand factor predict venous thromboembolism in patients with cancer / M. Pépin, A. Kleinjan, D. Hajage [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2016. – Vol. 14. – № 2. – P. 306–315.
540. Abdol Razak, N. Pancreatic Cancer-Induced Neutrophil Extracellular Traps: A Potential Contributor to Cancer-Associated Thrombosis / N. Abdol Razak, O. Elaskalani, P. Metharom // *Int J Mol Sci.* – 2017. – Vol. 18. – № 3. – P. 487.
541. Citrullinated histone H3, a biomarker of neutrophil extracellular trap formation, predicts the risk of venous thromboembolism in cancer patients / L.M. Mauracher, F. Posch, K. Martinod [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2018. – Vol. 16. – № 3. – P. 508–518.
542. Increased neutrophil extracellular trap formation promotes thrombosis in myeloproliferative neoplasms / O. Wolach, R.S. Sellar, K. Martinod [et al.] // *Sci Transl Med.* – 2018. – Vol. 10. – № 436. – P. ean8292.
543. Evidence and impact of neutrophil extracellular traps in malignant melanoma / F. Schedel, S. Mayer-Hain, K.I. Pappelbaum [et al.] // *Pigment Cell Melanoma Res.* – 2020. – Vol. 33. – № 1. – P. 63–73.
544. Pretreatment plasma D-dimer, fibrinogen, and platelet levels significantly impact prognosis in patients with epithelial ovarian cancer independently of venous thromboembolism / Y.N. Man, Y.N. Wang, J. Hao [et al.] // *Int J Gynecol Cancer.* – 2015. – Vol. 25. – № 1. – P. 24–32.
545. D-dimer and CA 125 levels in patients with ovarian cancer during antineoplastic therapy. Prognostic significance for the success of anti-cancer treatment / S.S. Mirshahi, E. Pujade-Lauraine, C. Soria [et al.] // *Cancer.* – 1992. – Vol. 69. – № 9. – P. 2289–2292.

546. Fibrinogen Is A Coagulation Marker Associated With The Prognosis Of Endometrial Cancer / Q. Li, R. Cong, F. Kong [et al.] // *Onco Targets Ther.* – 2019. – Vol. 12. – P. 9947–9956.
547. The prognostic value of plasma fibrinogen levels in patients with endometrial cancer: a multi-centre trial / V. Seebacher, S. Polterauer, C. Grimm [et al.] // *Br J Cancer.* – 2010. – Vol. 102. – № 6. – P. 952–956.
548. High pre-treatment plasma D-dimer level as a potential prognostic biomarker for cervical carcinoma / K. Nakamura, K. Nakayama, M. Ishikawa [et al.] // *Anticancer Res.* – 2016. – Vol. 36. – № 6. – P. 2933–2938.
549. Plasma D-dimer levels in operable breast cancer patients correlate with clinical stage and axillary lymph node status / K. Blackwell, Z. Haroon, G. Broadwater [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2000. – Vol. 18. – № 3. – P. 600–608.
550. Observational study of coagulation activation in early breast cancer: development of a prognostic model based on data from the real world setting / C. Mandoj, L. Pizzuti, D. Sergi [et al.] // *J Transl Med.* – 2018. – Vol. 16. – № 1. – P. 129.
551. Plasma fibrin D-dimer levels correlate with tumour volume, progression rate and survival in patients with metastatic breast cancer / L.Y. Dirix, R. Salgado, R. Weytjens [et al.] // *Br J Cancer.* – 2002. – Vol. 86. – № 3. – P. 389–395.
552. High plasma fibrinogen is correlated with poor response to trastuzumab treatment in HER2 positive breast cancer / Y.L. Liu, Q. Lu, J.W. Liang [et al.] // *Medicine (Baltimore).* – 2015. – Vol. 94. – № 5. – P. e481.
553. Hypercoagulation screening as an innovative tool for risk assessment, early diagnosis and prognosis in cancer: the HYPERCAN study / A. Falanga, A. Santoro, R. Labianca [et al.] // *Thromb Res.* – 2016. – Vol. 140. – Suppl. 1. – P. S55–59.
554. Thrombin generation predicts early recurrence in breast cancer patients / M. Marchetti, C. Giaccherini, G. Masci [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2020. – Vol. 18. – № 9. – P. 2220–2231.
555. PO-04-A new genetic risk score for predicting venous thromboembolic events in cancer patients receiving chemotherapy / A.J. Martín, A. Ziyatdinov, V.C. Rubio [et al.] // *Thromb Res.* – 2016. – Vol. 140. – Suppl. 1. – P. S177–178.

556. Thromboembolic event and metabolic hyperhomocysteinemia: A case report and review of literature / F. Biron, J.F. Rousseau, J.M. Baulin [et al.] // *Ann Cardiol Angeiol (Paris)*. – 2021. – Vol. 70. – № 3. – P. 177–182.
557. Homocysteine is Associated With Future Venous Thromboembolism in 2 Prospective Cohorts of Women / A.W. Aday, E.K. Duran, M. Van Denburgh [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2021. – Vol. 41. – № 7. – P. 2215–2224.
558. Targeting von Willebrand Factor in Ischaemic Stroke: Focus on Clinical Evidence / N. Buchtele, M. Schwameis, J. Gilbert [et al.] // *Thromb Haemost*. – 2018. – Vol. 118. – № 6. – P. 959–978.
559. Neutrophil extracellular traps in ischemic stroke thrombi / E. Laridan, F. Denorme, L. Desender [et al.] // *Ann Neurol*. – 2017. – Vol. 82. – № 2. – P. 223–232.
560. Covalent crosslinking of von Willebrand factor to fibrin / M. Hada, M. Kaminski, P. Bockenstedt, J. McDonagh // *Blood*. – 1986. – Vol. 68. – № 1. – P. 95–101.
561. Thrombin-dependent incorporation of von Willebrand factor into a fibrin network / A. Miszta, L. Pelkmans, T. Lindhout [et al.] // *J Biol Chem*. – 2014. – Vol. 289. – № 52. – P. 35979–35986.
562. Pharmacological Modulation of Neutrophil Extracellular Traps Reverses Thrombotic Stroke Tpa (Tissue-Type Plasminogen Activator) Resistance / C. Peña-Martínez, V. Durán-Laforet, A. García-Culebras [et al.] // *Stroke*. – 2019. – Vol. 50. – № 11. – P. 3228–3237.
563. ADAMTS13-mediated thrombolysis of t-PA-resistant occlusions in ischemic stroke in mice / F. Denorme, F. Langhauser, L. Desender [et al.] // *Blood*. – 2016. – Vol. 127. – № 19. – P. 2337–2345.
564. Phase I trial of HuMax-IL8 (BMS-986253), an anti-IL-8 monoclonal antibody, in patients with metastatic or unresectable solid tumors / M. Bilusic, C.R. Heery, J.M. Collins [et al.] // *J Immunother Cancer*. – 2019. – Vol. 7. – № 1. – P. 1–8.
565. A window-of-opportunity trial of the CXCR1/2 inhibitor reparixin in operable HER-2-negative breast cancer / L.J. Goldstein, R.P. Perez, D. Yardley [et al.] // *Breast Cancer Res*. – 2020. – Vol. 22. – № 1. – P. 4.

566. Yang, C. Dornase alfa for cystic fibrosis / C. Yang, M. Montgomery // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2021. – Vol. 3. – № 3. – CD001127.
567. Cancer cells induce metastasis-supporting neutrophil extracellular DNA traps / J. Park, R.W. Wysocki, Z. Amoozgar [et al.] // *Sci Transl Med.* – 2016. – Vol. 8. – № 361. – P. 361ra138.
568. Vitamin C: a novel regulator of neutrophil extracellular trap formation / B.M. Mohammed, B.J. Fisher, D. Kraskauskas [et al.] // *Nutrients.* – 2013. – Vol. 5. – № 8. – P. 3131–3151.
569. BCG-induced formation of neutrophil extracellular traps play an important role in bladder cancer treatment / K. Liu, E. Sun, M. Lei [et al.] // *Clin Immunol.* – 2019. – Vol. 201. – P. 4–14.
570. Citrullinated histone H3 as a novel prognostic blood marker in patients with advanced cancer / C. Thålin, S. Lundström, C. Seignez [et al.] // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13. – № 1. – P. e0191231.
571. Hawes, M.C. Extracellular DNA: a bridge to Cancer / M.C. Hawes, F. Wen, E. Elquza // *Cancer Res.* – 2015. – Vol. 75. – № 20. – P. 4260–4264.
572. Lazarus, R.A. Recombinant Human Deoxyribonuclease I / R.A. Lazarus, J.S. Wagener // *Pharmaceutical Biotechnology.* – 2019. – P. 471–488.
573. Джанджгава, Ж.Г. Клиническое значение выявления тромбофилии у пациенток с бесплодием и неудачами ЭКО: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.01 – Акушерство и гинекология / Джанджгава Жанна Гурамовна; ГОУ ВПО «Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова» Росздрава. – Москва, 2006. – 127 с.
574. Mertens, I. Obesity, haemostasis and the fibrinolytic system / I. Mertens, L.F. Van Gaal // *Obes Rev.* – 2002. – Vol. 3. – № 2. – P. 85–101.
575. PAI-1 plasma levels in a general population without clinical evidence of atherosclerosis: relation to environmental and genetic determinants / M. Margaglione, G. Cappucci, M. d'Addeda [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 1998. – Vol. 18. – № 4. – P. 562–567.

576. Гиляревский, С.Р. Современные подходы к диагностике и лечению эмболии легочной артерии: основные положения европейских клинических рекомендаций по диагностике и лечению тромбоза эмболии легочной артерии. Часть I. Подходы к диагностике эмболии легочной артерии / С.Р. Гиляревский // Сердце: журнал для практикующих врачей. – 2009. – Т. 8. – № 5. – С. 270–290.
577. Risk of venous thrombosis: obesity and its joint effect with oral contraceptive use and prothrombotic mutations / E.R. Pomp, S. le Cessie, F.R. Rosendaal, C.J. Doggen // Br J Haematol. – 2007. – Vol. 139. – № 2. – P. 289–296.
578. Association of uPA and PAI-1 tumor levels and 4G/5G variants of PAI-1 gene with disease outcome in luminal HER2-negative node-negative breast cancer patients treated with adjuvant endocrine therapy / M. Jevrić, I.Z. Matic, A. Krivokuća [et al.] // BMC Cancer. – 2019. – Vol. 19. – № 1. – P. 71.
579. Madunić, J. The Urokinase Plasminogen Activator System in Human Cancers: An Overview of Its Prognostic and Predictive Role / J. Madunić // Thromb Haemost. – 2018. – Vol. 118. – № 12. – P. 2020–2036.
580. Circulating Levels of PAI-1 and SERPINE1 4G/4G Polymorphism Are Predictive of Poor Prognosis in HCC Patients Undergoing TACE / R. Divella, A. Daniele, I. Abbate [et al.] // Transl Oncol. – 2015. – Vol. 8. – № 4. – P. 273–278.